

ARTHUR POLAK

Experimenteel veroorzaken
van Nier- en Blaassteen
door middel van de voeding

AMSTERDAM
BIGOT EN VAN ROSSUM N.V.

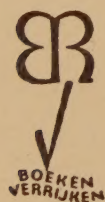
EXPERIMENTEEL VEROORZAKEN
VAN NIER- EN BLAASSTEENEN
DOOR MIDDEL VAN DE VOEDING

Experimenteel veroorzaken van Nier- en Blaassteen door middel van de voeding

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING
VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEES-
KUNDE AAN DE UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM,
OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS DR. W.
P. C. ZEEMAN, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT
DER GENEESKUNDE, IN HET OPENBAAR TE VER-
DEDIGEN IN DE AULA DER UNIVERSITEIT OP
DONDERDAG 25 JUNI 1936, DES NAMIDDAGS
TE 3^{1/2} UUR

DOOR

ARTHUR POLAK, ARTS
GEBOREN TE ZWOLLE



AMSTERDAM
BIGOT EN VAN ROSSUM N.V.

AAN MIJN OUDERS

Het verschijnen van mijn proefschrift biedt mij een welkome gelegenheid om U, Hoogleeraren, Lectoren en Docenten der Medische en Natuur-Philosophische faculteiten der Universiteit van Amsterdam openlijk dank te zeggen voor het onderwijs, dat ik van U heb genoten.

In eerbiedige herinnering houd ik de verscheiden Hoogleeraren BOLK, LANZ en DE VRIES.

In het bijzonder ben ik U dank verschuldigd, Hooggeleerde JANSEN, Hooggeschatte promotor, voor het vele, dat ik mij op Uw laboratorium en onder Uw leiding heb mogen verwerven. Uw onverflauwde belangstelling in mijn werk en de wel zeer groote gastvrijheid, die ik steeds in Uw laboratorium mocht ontvangen, zullen mij altijd tot dankbaarheid blijven stemmen.

Hooggeleerde SNAPPER. Ook U ben ik zeer dankbaar voor de belangstelling, die U steeds voor mijn werk hebt getoond en in het bijzonder dank ik U voor de door U aan mij gegeven adviezen en voor Uw daadwerkelijke hulp, mij bij de uitvoering van een deel mijner proeven betoond.

Zeër Geleerde WESTENBRINK. Niet alleen voor de belangstelling in mijn werk en de door U gegeven adviezen, speciaal bij de verrichting der calciumbepalingen ben ik U dank verschuldigd, maar nog veel meer voor de wijze waarop ik zooveel jaren met U over allerlei onderwerpen heb mogen spreken.

Zeër Geleerde ARONS. De buitengewoon aangename wijze waarop ik steeds met U heb mogen samenwerken en de constante belangstelling, die U voor mijn werk hebt getoond, zal ik nimmer vergeten.

Mejuffrouw VAN DER RIJST. Zeer veel dank ben ik U verschuldigd voor de nauwkeurige bewerking en beschrijving der sectieverslagen, waarvan ik steeds een dankbaar gebruik mocht maken. Uw belangstelling voor mijn werk stel ik zeer op prijs.

Mejuffrouw PIET wil ik dank brengen voor de vlotte en nauwkeurige verrichting der Calciumbepalingen in het bloed.

Den Heer WIARDI zeg ik dank voor de correcte wijze waarop hij er steeds zorg voor heeft gedragen, dat het mij bij het verrichten der proeven nimmer aan iets ontbrak.

Tenslotte dank ik alle leden van het personeel van het Physiologisch-Chemisch laboratorium te Amsterdam zonder onderscheid voor de hulpvaardigheid, die ik gedurende de jaren, dat ik op het laboratorium werkzaam was, van allen mocht ontvangen.

INHOUD

INLEIDING

HOOFDSTUK I.

Algemeene inleiding tot de aetiologie van het probleem der nier- en blaassteenvorming	I
---	---

HOOFDSTUK II.

Literatuuroverzicht betreffende het experimenteele onderzoek over het verband tusschen de voeding en de steenvorming	5
--	---

HOOFDSTUK III.

Experimenteel onderzoek	17
-----------------------------------	----

HOOFDSTUK IV.

Calciumbepalingen in het bloedserum van ratten, die overmaat CaCO_3 in het voedsel krijgen	56
---	----

HOOFDSTUK V.

1) Samenvatting	60
2) Summary	63

GERAADPLEEGDE LITERATUUR	66
------------------------------------	----

INLEIDING

In dit proefschrift zijn de resultaten beschreven, die bereikt zijn bij een ongeveer vier jaar durend experimenteel onderzoek betreffende de vorming van nier- en blaassteen bij ratten.

Met de voltooiing van dit boekje is echter het onderzoek nog niet beëindigd, doch wij hopen onze experimenten te kunnen voortzetten, voorloopig zooals is aangegeven in de aan het eind van het laatste hoofdstuk beschreven richtingen.

Hoewel wij ons bij de behandeling van het onderwerp steeds hebben gehouden aan de beschrijving van het dierexperiment en hoewel wij ons er wel terdege van bewust zijn, dat deze dierproeven zeker niet zonder meer op den mensch van toepassing zijn, zoo heeft ons toch steeds voor oogen gestaan de eventueele beteekenis van dit alles voor de menschelijke pathologie. Immers wie steeds weer ziet, dat ons therapeutisch kunnen eerst dan bij het steenlijden een rol gaat spelen, indien er ernstiger complicaties — een hydronephrose of pyonephrose — gaan dreigen, die moet toch wel getroffen worden door de groote leemte in ons kunnen, waarbij het mes genezing moet brengen bij een ziekte, die toch ongetwijfeld voor een groot deel een echte stofwisselingsziekte is.

Een ieder, die zich dus met het probleem der steenvorming bezig houdt, zal zich voor alles de vraag moeten stellen: Hoe kunnen wij iets vinden om in ons lichaam het ontstaan van concrementen te voorkomen? En de volgende vraag, die wij dan eerst moeten bestudeeren is: Hoe ontstaan de steenen in ons lichaam? Ook die vraagstelling is reeds oud en vele antwoorden zijn er op gegeven, die echter geen van alle tot nu toe, op zich zelf juist zijn gebleken.

Eén feit van beteekenis is de laatste jaren duidelijk geworden en wel, dat de samenstelling der voeding een rol speelt bij de steenvorming — zoowel waarschijnlijk door een tekort aan vitamine A, alsook door veranderingen in de minerale stofwisseling.

Wij hebben nu getracht deze factoren te bestudeeren bij het dierexperiment en de gegevens — zoowel de bevestiging van resultaten van anderen, alsook eenige nieuwere, voor zoover ons bekend, nog niet eerder beschreven feiten — hebben wij in dit boekje bijeengebracht.

Wij meenden goed te doen met de proeven uitvoerig te beschrijven en de gevonden feiten zonder meer te constateeren. Aan theoretische beschouwingen hebben wij ons nog niet gewaagd.

Het pathologisch-anatomisch deel van dit onderzoek, dat verricht is door Dr. PH. ARONS en Mej. M. P. J. VAN DER RIJST, zal binnenkort verschijnen en de dierproeven dus op dit gebied completeren.

HOOFDSTUK I

ALGEMEENE INLEIDING TOT DE AETIOLOGIE VAN HET PROBLEEM DER NIER- EN BLAASSTEENVORMING

Hoewel het geenszins in onze bedoeling ligt op de vele theorieën, die er omtrent de concrementvorming in ons lichaam bestaan, diep in te gaan, hebben wij toch gemeend, dat een kort overzicht van de hieromtrent bestaande opvattingen, voorafgegaan door een zeer beknopte historische inleiding, wel op zijn plaats is.

Zoo oud als de geneeskunst zelf is, zoo oud is ook het probleem der aetiologie van de steenvorming. Eenige van de oudst bekende gegevens op dit gebied zijn bijeengebracht in het proefschrift van C. VAN STAVEREN (1934). Immers o.a. HIPPOCRATES, AVICENNA, ALBUCASIS en anderen hebben zich in de grijze oudheid reeds met deze problemen beziggehouden.

Ook in ons land, waar in vroeger eeuwen steenlijden naar alle waarschijnlijkheid veel vaker voorkwam dan thans, bestaan hierover velerlei gegevens.

O.a. schrijft ANTHONI VAN LEEUWENHOEK in 1692 in een van zijn brieven naar Engeland, dat speciaal „de Menschen van seer geringe middelen, hare kinderen met de steen sijn gequelt”. Een feit van bijzondere beteekenis is het in ieder geval dat ongetwijfeld ook in deze streken speciaal de armere bevolking en wel van dit bevolkingsdeel nog meer in het bijzonder de kinderen in vroegere jaren aan blaassteen hebben geleden. In hoeverre hier sprake geweest kan zijn van een avitaminose waag ik niet te beoordeelen.

In latere jaren nam waarschijnlijk de frequentie van het steenlijden af, maar procentsgewijs bleef het aantal kinderen, dat aan deze ziekte leed, nog zeer hoog.

Immers in 1845 schreef W. VROLIK een verslag over het aantal en de behandelingswijze der steenlijders, die van 1830-1844 in Nederland zijn voorgekomen.

Volgens deze schrijver kwamen er gedurende deze veertien jaar in Nederland 59 gevallen van niersteenlijden voor, hiervan

waren 54 personen van het mannelijk en 5 van het vrouwelijk geslacht. Vier en dertig van deze lieden waren kinderen beneden de twaalf jaar.

Een ziektestatistiek uit den tegenwoordigen tijd, waarin gegevens te vinden zijn over de frequentie van het steenlijden in ons land in het algemeen en in het bijzonder bij kinderen, bestaat voor zoover ons bekend is, niet.

Het zou evenwel zeer zeker de moeite loonen om zoo mogelijk een vergelijking te trekken tusschen het aantal lijders aan deze ziekte in ons land voorheen en thans, daar hieruit waarschijnlijk belangrijke gegevens te verkrijgen zouden zijn over de oorzaken van het steenprobleem in verband met de veranderde voedingsomstandigheden.

Op de vele theorieën, die er in de loop der laatste decennien bedacht en ten deele zoowel door klinische verschijnselen, als ook door laboratoriumonderzoekingen bevestigd zijn, kan ik hier niet ingaan. Immers het grondig bestudeeren en bewerken van de literatuur van de meeste dezer theorieën zou een gansche studie op zich zelf zijn.

Wij hebben dus gemeend, dat het beter was ons slechts te beperken tot de literatuur betreffende de dierproeven, die een verband trachten te leggen tusschen voeding en steenvorming.

Wie omtrent de andere theorieën, die ik hieronder zeer in het kort even zal vermelden, meer wil weten, verwijs ik naar de artikelen van KEYSER en COUNSELLER and PRIESTLY (1935) waar ook uitvoerige literatuuroverzichten te vinden zijn betreffende deze onderzoekingen.

Reeds langen tijd wordt een groote beteekenis toegekend aan de „Schutzcolloïden” in de urine, die een rol zouden spelen bij het voorkomen van steenen.

In 1846 heeft reeds MECKEL'S VON HEMSBACH er op gewezen, dat er in de urine, naast een bepaalde, anorganische, steengevende stof ook altijd organische stoffen aanwezig moesten zijn.

Pas veel later heeft W. EBSTEIN er met nadruk op gewezen, dat er steeds bij het ontstaan van steenen een organische kernsubstantie was, terwijl het nog weer veel later, voornamelijk door de onderzoekingen van LICHTWITZ, SCHADE en anderen duidelijk is geworden, dat de in water onoplosbare steenvormende stoffen in de urine opgelost blijven, doordat zij worden gebonden aan zoogenaamde „Schutzcolloïden”.

KEYSER (1935) heeft nu kunnen aantoonen, dat er bij een vermeerderde uitscheiding van calciumoxalaat, die hij bij zijn

proefdieren verwekte door ze calciumzouten in te spuiten, steenen ontstonden.

Als verklaring wordt hierbij dan gegeven, dat er hier zooveel anorganische substantie in de urine kwam, dat de „Schutz-colloiden” dit alles niet meer konden adsorbeeren.

Deze proeven zijn genomen met konijnen als proefdieren.

Veel waarde wordt door sommigen gehecht aan de *bacterieele infecties* van de urinewegen, als oorzaak van steenvorming.

In het bijzonder ROSENOW (1926) en zijn medewerkers zijn er in geslaagd, bij honden nierstenen te doen ontstaan door op ontstoken tanden van deze dieren bacteriekolonies te enten. Deze bacteriën waren streptococcen, afkomstig van tanden, tonsillen en urine van patienten, die lijdende waren aan recidiveerende nierstenen. Bij ongeveer 60 % van de proefdieren ontstonden er nierstenen.

HAGER en MAGATH (1925) in Amerika meenen er zelfs in geslaagd te zijn een zeer specieke „steenverwekkende bacterie”, die verwant zou zijn met de *Proteus*groep, te hebben afgescheiden.

Deze bacterie zou door ureum te splitsen in ammoniak en koolzuur, een chronische incrusteerende cystitis doen ontstaan, waarna aansluitend hieraan steenvorming zou optreden.

Dat behalve de ontsteking ook de *stasis* een belangrijke rol bij de steenvorming zou spelen, wordt door vele schrijvers (ROVSING, LIVERMORE, HUNNER, MATHÉ) aangenomen, of deze factoren echter primair zijn bij de steenvorming, of dat zij slechts een medewerkende factor vormen, daarover is men het lang niet eens.

In dit verband moet ik nog even noemen het ontstaan van incrustaties rondom organische of anorganische corpora aliena in de urinewegen. O.a. heeft hier te lande VAN LEERSUM steenvorming rondom wormeieren zien optreden.

De laatste jaren is er speciaal van klinische zijde gewezen op een verband dat er bestaat tusschen *steenvorming* en *hyperparathyreoidie*.

Bij de ziekte van Recklinghausen wordt er kalk aan het skelet onttrokken en diensgevolge ontstaat er een hypercalcaemie. Bovendien is er mede onder invloed van een overmatige productie van bijschildklierhormon een hypophosphataemie. In de urine komt bij deze patienten echter zoowel een te hoog gehalte aan calcium, als ook aan anorganische phosphorus voor.

ALBRIGHT en BAIRD (1934) vonden nu drie en twintig maal

niersteen en bij drie en tachtig gevallen van hyperparathyreoïdie. Hierop voortbouwende zagen nu ALBRIGHT, AUB en BAUER bij zeventien gevallen van hyperparathyreoïdie, tien maal steenen der urinewegen optreden, waarbij zeven maal het eenige klinische symptoom juist het optreden van steenen was. Bij deze zeven gevallen was er vijf maal geen enkele botafwijking te vinden.

Tegenwoordig gaat men in Amerika in één bepaalde kliniek er reeds toe over om bij elke patient met chronisch recidiveerende niersteen en het calcium- en fosphaatgehalte van het bloedserum te bepalen en aldus was het mogelijk bij elf patienten, die wegens niersteen en kwamen, ook verschijnselen van hyperparathyreoïdie te ontdekken. (BARNEY en MINTZ (1934) geciteerd naar SNAPPER.)

Als volgende factor, die een rol bij de steenvorming zou spelen, moet hier de *voeding* genoemd worden. En waar juist ons eigen experimenteele werk geheel op dit terrein ligt, hebben wij gemeend het literatuuroverzicht betreffende het verband tusschen de voeding en steenvorming in een afzonderlijk hoofdstuk te moeten verwerken.

HOOFDSTUK II

LITERATUUROVERZICHT BETREFFENDE HET EXPERIMENTEELE ONDERZOEK OVER HET VERBAND TUSSCHEN DE VOEDING EN DE STEENVORMING

De eerste mededeeling aangaande dierproeven, die een direct verband legt, tusschen voeding en steenvorming is van OSBORNE en MENDEL (1917).

Zij vonden bij 857 secties van ratten 81 gevallen van steenvorming en bij nader onderzoek bleek nu, dat in alle gevallen, waarin steenen optraden, de dieren gedurende een zekere tijd onvoldoende vet-oplosbaar vitamine hadden gehad. Bij de normaal gevoedde kweekratten werden steenen nooit waargenomen. De hoofdbestanddeelen der steenen waren fosphaten van calcium en magnesium.

Als tweede belangrijke publicatie op dit gebied moet het onderzoek genoemd worden van den Japanner YOSHITOMO FUJIMAKI (1926). Deze zag dat steenen optraden bij ratten, die gedurende langen tijd een tekort aan vitamine A hadden gehad en hij onderzocht nu uitvoerig of er eenig verband bestond tusschen steenvorming eenerzijds en de afwezigheid van vitamines en zouten in het voedsel anderzijds.

Hij kwam, door deze uitvoerige en langdurende proeven, waarbij hij jonge albinoratten als proefdieren gebruikte, tot de volgende conclusies:

De ratten, die een voedsel kregen, dat geen vitamine B, of geen C, of geen vitamine B en C bevatte, kregen geen steenen. De ratten, die een normaal volwaardig dieet kregen, kregen ook geen steenen, evenmin ratten, die slechts gedurende korten tijd gebrek aan vitamine A hadden. Evenwel bij die beesten, die gedurende langen tijd een tekort aan vitamine A kregen, werden wel steenen gevormd.

In dit geval werden eerst blaassteenen, daarna niersteenen en tenslotte ook leversteenen gevonden. De steenen van de urinewegen waren fosphaatsteenen. De leversteenen waren cholesterolsteenen.

Werden de ratten op een eiwitvrij dieet met voldoende vitamine A gezet, dan werden geen steenen gevormd. Was er evenwel te weinig eiwit en te weinig vitamine A, dan vormden zich de steenen zeer snel. Zeer korten tijd duurde het, voordat steenen werden gevormd, indien er behalve een tekort aan vitamine A ook een tekort aan anorganische phosphorus en calcium was. In dat geval werden eerst leversteenen, daarna blaassteenen en pas in de laatste plaats niersteenen gevormd.

In dit laatste geval waren de steenen der urinewegen carboonaatsteenen, terwijl de leversteenen uit calciumzouten met cholesterol en pigment bestonden. Deze onderzoeken zijn eenige jaren later herhaald en uitgebreid door DE LANGEN te Batavia (1929). De uitkomsten, die beide onderzoekers verkregen, waren vrijwel gelijk, alleen zag DE LANGEN altijd eerst blaassteenen optreden en er was nooit een omkeering in de volgorde van ontstaan der verschillende steensoorten.

Zoowel blaassteenen als niersteenen bestonden uit phosphaten van calcium en magnesium; verder stukjes necrotisch weefsel en er tusschenin talrijke ettercellen. Ook de galsteenen behoorden alle tot de ontstekingssteenen en bevatten weinig cholesterol. Verder bleek, dat deze ratten gedurende de proef alcalische urine hadden en dat er hierin producten van hevige ontstekingsverschijnselen te zien waren.

In het tweede deel van zijn publicatie gaat schrijver de verspreiding van blaassteenen op Java na in verband met bepaalde voedings- of andere geografische en economische verhoudingen. Hierbij bleek, dat practisch overal op Java blaassteenpatienten worden waargenomen. Bij het onderzoek van deze steenen is het nu gebleken, dat zij steeds zijn opgebouwd uit een kern en een mantel. De kern bestaat uit calcium, phosphaten en magnesium, slechts af en toe kleine hoeveelheden oxalaten en uraten.

Verder concludeert DE LANGEN uit het feit, dat vrijwel in alle gevallen het steenlijden tot de kinderleeftijd is terug te brengen, dat het de vele darm- en voedingsstoornissen der kinderen zijn, die als oorzaak der steenvorming optreden.

Als volgende onderzoeker moet ik hier noemen VAN LEERSUM (1927-1930). Deze onderzocht 645 ratten, die alle een voedsel hadden gekregen, waarin een onvoldoende hoeveelheid vitamine A zat, macroscopisch en microscopisch, op de aanwezigheid van blaas- en niersteenen.

De steenen bestonden uit calcium en ammonium-magnesiumphosphaat en calcium oxalaat. Verder zag hij, dat ze meer bij

mannetjes dan bij wijfjes voorkwamen. In de tubuli van de nieren zijn zeer veelvuldig calciumdepôts aanwezig, maar nooit in de glomeruli. VAN LEERSUM stelt nu de volgende theorie op over het ontstaan der nier- en blaassteen in deze gevallen:

Gebrek aan vitamine A geeft typische verhoorning van epitheelcellen, ook hier in de tubuli. Deze verandering doet een calciumneerslag in de nu doode epitheelcellen ontstaan. Deze calciumdepôts worden nu met de urine meegevoerd naar de blaas, waar zij, als corpora aliena, grooter worden door verdere afzetting van zouten in de urine.

MC CARRISON (1928-1931) uit Britsch-Indië was bezig met het nemen van proeven over de invloed van een bepaald dieet op de schildklierwerking bij ratten. Bij het verrichten van dat onderzoek, zag hij bij één groep dieren blaassteen ontstaan en wel bij 40 % van de wijfjes en bij 13 % van de mannetjes. Dit verschil in het optreden van steenen bij de verschillende geslachten bleek echter in zijn volgende proeven niet aanwezig te zijn en zal dus op toeval hebben berust. Bij nader onderzoek waren er aan het betreffende voedsel de volgende bijzonderheden op te merken:

- a) geen dierlijk eiwit;
- b) een tekort aan vitamine A;
- c) veel phosphaten;
- d) misschien een factor, die toxisch kon werken op de urinewegen.

Op dit feit voortbouwende breidde hij zijn proefnemingen aanmerkelijk uit en nu zag hij vooreerst, dat een dieet, dat samengesteld was uit tarwemeel, lijnmeel, zouten en calciumphosphaat bijzonder vaak blaassteen deed ontstaan, met als gevolg hiervan cystitis, verwijding van de ureteren, hydronephrosis en pyonephrosis. De steenen waren vrijwel geheel opgebouwd uit calciumphosphaat en een weinig calciumoxalaat. De voornaamste fouten, die dit dieet bezit, zijn het hoge gehalte aan granen en aan phosphaten en bovendien een tekort aan vitamine A. Hij vestigt er in dit verband de aandacht op, dat dit dieet veel overeenkomst vertoont met het dieet, dat gebruikt wordt door de inwoners van die streken in Noord-Britsch-Indië, waar veel steenen voorkomen.

Bij de volgende experimenten bleek het nu, dat, indien hij ratten, die het bovenstaande dieet kregen, bovendien volle melk (in een hoeveelheid van $\frac{2}{3}$ Engelsch ons per rat per dag) gaf, deze dieren geen steenen kregen.

Zijn conclusie hieruit luidt dan ook, dat blaassteen bij de ratten een gevolg zijn van een tekort in de voeding. De stof, die dit tekort veroorzaakt, waarschijnlijk vitamine A, moet dus voldoende aanwezig zijn in volle melk. Verder bleek deze stof niet in voldoende hoeveelheid aanwezig te zijn in die plantaardige oliën, welke in Britsch-Indië veel worden gebruikt, met name lijnolie en sesamolie. Gaf hij echter niet melk, maar boter als bijvoeding, dan kwamen er ook geen steenen voor.

Macroscopisch was er bij vele van de dieren, die blaassteen vertoonden, niets van een cystitis te zien.

MC CARRISON deed ook proeven, die eenigszins gelijken op de eerst door ons gedane experimenten, (zie eigen werk voedsel LP). Hij gaf namelijk een groep dieren, die een voedsel kregen dat te weinig eiwit, te weinig vet-oplosbare vitamines en te weinig vitamine C bevatte, bovendien per 20 gram voedsel 5 korrels gebluschte kalk extra en hierbij bleek, dat er dan procentsgewijs meer steenen dan gewoonlijk optraden.

Wanneer hij de dieren een volwaardig voedsel gaf en bovendien 7-10 korrels gebluschte kalk per 20 gram voedsel extra, dan kregen zij in een periode van 8½ maand geen steenen. In dit verband wordt naar het wijd-verspreide volksgeloof verwezen, dat het gedurende langen tijd gebruiken van hard water, steenvorming in de hand zou werken. Vervolgens werd nagegaan het steenvormend vermogen van de meeste in Indië gebruikte granen, waarbij het bleek, dat de verschillende soorten niet hetzelfde steenvormend vermogen bezitten.

In de volgorde tarwe, haver, rijst, gierst en cambu als hoofdbestanddeel van de verschillende voedsels gebruikt, ontstonden procentsgewijs de meeste steenen bij tarwemeel en de minste bij cambu.

Nadrukkelijk wordt er op gewezen, dat het steenvormend vermogen van deze graansoorten alleen tot uiting kan komen, indien er tevens niet voldoende vitamine A in het voedsel aanwezig is; bij ratten, die een volwaardig voedsel kregen, werden nooit steenen gezien.

Tot deze laatste groep van onderzoeken was MC CARRISON gekomen naar aanleiding van een onderzoek over de streeks-gewijze verspreiding van steenen in Britsch-Indië. Hierbij was het hem namelijk gebleken, dat er meer steenen voorkwamen in die streken, waar veel tarwemeel gegeten werd dan in die streken, waar rijst het hoofdvoedsel der bevolking was.

In een samenvattend overzicht worden de factoren, die bij

de steenvorming een belangrijke rol spelen, onderscheiden in positieve en negatieve.

De negatieve zijn tekort aan vet-oplosbare vitamines en tekort aan phosphaten. Dit laatste is in tegenspraak met de bij zijn eerste proeven genoemde bewering, dat juist een overmaat phosphaten de steenvorming zou bevorderen.

De positieve factoren zijn overmaat kalk en een onbekende factor, die in verschillende graansoorten zit. Nadrukkelijk voegt hij er ook nu weer aan toe, dat de positieve factoren onwerkzaam schijnen te zijn, indien er voldoende van de negatief werkende factoren in het voedsel aanwezig is.

Dat zoowel cystitis en pyonephrosis zonder steenvorming, als ook steenvorming zonder ontstekingsverschijnselen kan optreden, bevestigt hij nog eens.

Hoewel volgens sommigen een overmaat van vitamine D in het dieet steenen zou kunnen doen ontstaan bij albinoratten, heeft Mc Carrison nooit een bijzondere werking in dit opzicht gezien, indien hij zijn proefdieren met zonlicht bestraalde.

Nadrukkelijk wil ik er hier de aandacht op vestigen, dat door deze bestraling met zonlicht wel voldoende vitamine D werd gegeven, echter niet een overmaat.

Gaf hij ratten een basisdieet van uitsluitend tarwebrood en gist, dan zag hij in 14,6 % der gevallen steenen der urinewegen ontstaan. Deze steenen bestonden uit ammoniummagnesium phosphaat. Gaf hij bij dit basisdieet gebluschte kalk extra, dan traden er meer infecties van de urinewegen en meer steenen op, die nu echter waren samengesteld uit calciumcarbonaat of calciumhydroxyde of een mengsel van deze beide stoffen.

Indien hij echter behalve tarwebrood, gist en gebluschte kalk ook nog een voldoende hoeveelheid van een preparaat, dat genoeg vitamine A bevatte (radiostoleum) gaf, dan daalde het aantal steenen aanmerkelijk. Ook bleek het, dat er een omgekeerde evenredigheid bestond tusschen de hoeveelheid kalk, die werd gegeven en het vermogen om de steenvorming te voorkomen van het vitamine A preparaat.

Om de ratten normaal te doen groeien, was er een bepaalde verhouding tusschen het radiostoleum en de kalk nodig.

S. RANGANATHAN (1931), een leerling van MC CARRISON, deed uitvoerige onderzoekingen over de calcium- en phosphorstofwisseling, in verband met de bovengenoemde proeven over steenvorming bij witte ratten.

Hij werd getroffen door het feit, dat er bij de bovenvermelde

onderzoekingen eenerzijds steenen waren, die uit ammoniummagnesium fosphaat waren samengesteld en anderzijds steenen, die voornamelijk uit calcium bestonden, vooral in de vorm van carbonaat en ten deele als hydroxyde. Nooit werden uraatsteenen gevonden. Hij gaf nu aan zijn proefdieren een basisdieet, dat bestond uit tarwebrood en gist, een weinig ongebluschte kalk en een spoortje jodium.

Hieraan werden bepaalde stoffen, — melk, kalk, boter, sesamolie, phosphaten, een geconcentreerde oplossing van vitamine A, een preparaat, dat vitamine A en vitamine D bevatte, levertraan en combinaties van deze stoffen — toegevoegd.

Sommige van deze dieeten bevatten geen en andere wel een voldoende hoeveelheid vitamine A. Sommige van de dieeten waren zoodanig samengesteld, dat er te veel calcium, in de vorm van CaO , werd gegeven, waarbij schrijver dan speciaal de nadruk legt op de aldus ontstane foutieve calcium/phosphaat verhouding in het lichaam.

Telkens kregen reeksen van twaalf proefdieren gedurende zes weken een bepaald dieet en van deze dieren werd wekelijks nagegaan de hoeveelheden calcium, phosphaten en magnesium, die met het voedsel werden opgenomen en met de urine en faeces werden uitgescheiden.

De resultaten van deze uitvoerig beschreven onderzoekingen zijn de volgende:

In de eerste plaats bleek het, dat dieren, die veel calcium met het dieet kregen toegevoerd, veel meer calcium met de urine uitscheidten, indien zij geen vitamine A in het voedsel kregen, dan indien hun een overigens volwaardig voedsel werd verstrekt. De dieren, die een volwaardig voedsel kregen met extra calcium, scheidden de overmaat calcium vooral met de faeces uit; wel kregen deze dieren een overmatige uitscheiding van phosphaten in de urine. Deze bleef echter uit, indien de dieren geen vitamine A in het voedsel kregen.

Verder bleek de hoeveelheid in de urine uitgescheiden calcium omgekeerd evenredig te zijn met de hoeveelheid in de urine uitgescheiden phosphaten.

Het bleek nu verder, dat het voorkomen van calciumcarbonaat en van calciumhydroxydesteenen beïnvloed werd niet alleen door een tekort aan vitamine A, maar nog meer door een verstoring van de calcium/phosphaat verhouding. Immers toediening van vitamine A deed de ontstane steenen niet verdwijnen.

Ten slotte zag deze onderzoeker, dat een overmaat van calcium in het voedsel de uitscheiding van magnesium in de urine niet verhoogde.

Teruggrijpende op zijn reeds vroeger genoemde onderzoeken, zag MC CARRISON (1931) dat, indien hij bij een dergelijk dieet, dat onvoldoende vitamine A en onvoldoende fosphaten bevatte en dat rijk was aan calcium, gedurende langen tijd volle melk gaf, er geen steenen ontstonden.

Hij zegt, dat bovendien een belangrijke factor bij het ontstaan van steenen is, de algemeene slechte voedingstoestand van deze dieren, die ontstaat ten gevolge van het nuttigen van dit dieet. Indien melk als bijvoeding wordt gegeven, worden al deze factoren dus blijkbaar gecorrigeerd.

MC CARRISON en RANGANATHAN (1931) gingen nu verder na of deze beschuttende werking van de melk was toe te schrijven aan de hierin voorkomende vitaminen A en D, aan het fosphaatgehalte of aan beide factoren.

Het bleek toen, dat noch toevoeging van natriumphosfaat alleen, noch van vitamine A alleen of van beide vet-oplosbare vitaminen het ontstaan van nier- en blaassteenen kon voorkomen.

Gaven zij echter zoowel fosphaten, alsook vitamine A extra, dan zagen zij geen steenen ontstaan.

Vooruitloopende op onze eigen onderzoeken wil ik hier vast vermelden, dat deze gegevens geheel in overeenstemming zijn met de het eerst door ons genomen proeven.

Aansluitend aan bovenstaande experimenten onderzocht S. RANGANATHAN (1931) 23 steenen, die ontstaan waren bij rundvee in Britsch-Indië en die hem uit allerlei verschillende districten waren toegezonden.

Zij bestonden vrijwel geheel uit calciumcarbonaat, met een weinig magnesiumcarbonaat; zij bevatten een spoortje stikstof en geen urinezuur. Hij kon geen verband leggen tusschen de chemische samenstelling der steenen en de leeftijd der dieren, de districten, waar zij woonden en het gehalte aan mineralen van het drinkwater in de betreffende streken.

GASPARJAN en OWSCHINNIKOW (1930) gaven negentig muizen gedurende vijf en een halve week een A vitaminevrij dieet. Hiervan hadden er twaalf na verloop van dien tijd steenen. In tien gevallen waren het fosphaatsteenen en twee maal gemengde steenen; n.l. fosphaten en oxalaten. Hoewel zij zich er wel van bewust zijn, dat deze gegevens niet zonder meer op de menschelijke pathologie van toepassing zijn, vestigen zij

er de aandacht op, dat fosphaatsteen en voornamelijk gevonden worden bij dat deel van de bevolking, dat een tekort heeft aan bepaalde vitaminen en speciaal aan vitamine A.

BLISS, LIVERMORE en PRATHER (1933) deden onderzoekingen over de vorming van steenen bij een tekort in de voeding aan de verschillende vitaminen.

Ook zij konden bevestigen, dat bij een volwaardig dieet bij witte ratten nooit steenen ontstonden.

Vitamine A tekort deed steenen ontstaan, die uit calcium en magnesiumfosfaat bestonden. Zij vonden wel wat meer steenen bij een dieet, dat behalve vitamine A tekort, ook geen vitamine D bevatte.

De mogelijkheid van een misschien secundaire invloed van het vitamine D op de steenvorming wordt door deze onderzoekers overwogen.

Slechts een enkele maal zagen zij niersteen en ontstond, doch vrijwel steeds alleen blaassteen. Verschil in sexe bij de steenvorming werd door hen niet gezien.

SANETOSHI SAIKI (1933) zegt, dat er twee richtingen zijn onder hen, die het ontstaan der steenen bestudeeren, de eene, die uitgaat van een fout in de minerale stofwisseling en de andere, die als oorzaak een avitaminose aanneemt. Ook hij zag, dat bij jonge ratten, die een voedsel kregen, waaraan alleen vitamine A ontbrak, na eenigen tijd steenen ontstonden, eerst blaassteen, later niersteen en ten slotte, echter veel zeldzamer, leversteen. De urine van deze ratten reageerde alkalisch ten opzichte van lakmoespapier en de steenen bestonden uit phosphaten.

Indien deze dieren echter werden blootgesteld aan de inwerking van ultraviolette stralen, dan was het veel lastiger bij hen steenen te doen ontstaan, zelfs indien zij in tegenstelling tot de proeven van Fujimaki, een dieet kregen, dat behalve een tekort aan vitamine A, een overmaat aan calcium en een tekort aan anorganisch phosphorus bevatte. Hij veronderstelt dan ook, dat een gebrek aan vitamine D een rol zou spelen bij de steenvorming.

Van Duitsche zijde zijn door PERLMANN en WEBER (1930) in een drietal artikelen hun ervaringen medegedeeld over dierproeven met een voedsel, dat een tekort aan vitamine A had. Ook zij komen tot de conclusie, dat een gebrek aan vitamine A in de voeding bij ratten, na eenigen tijd blaassteen doet ontstaan.

In verband met het feit, dat in die landen, waar blaassteen

endemisch voorkomen, speciaal kinderen hieraan lijden, terwijl juist in die landen, waar een goed geregelde kinderverzorging en een in de latere jaren verbeterde kindervoeding bestaat, de blaasstenen minder frequent voorkomen, richtten zij hun proeven als volgt in:

Een deel der ratten kreeg vitamine A vrije voeding, een deel der ratten vitamine A vrije voeding met melk er bij, een derde groep vitamine A vrije voeding met levertraan en een vierde groep een volwaardig dieet. Speciaal melk en levertraan gaven zij extra aan deze twee groepen, omdat dit juist beide voedingsmiddelen zijn, die bij de hedendaagsche kindervoeding zoo een voorname rol spelen.

Alle dieren werden na vijf maanden gedood en geseceerd.

Bij de dieren der eerste groep vonden zij na vijf maanden in vijf en twintig procent der gevallen blaasstenen, die uit calciumphosphaat bestonden. De dieren der overige drie groepen vertoonden niets bijzonders, ook geen steenvorming en waren goed gegroeid.

Het frappeerde deze onderzoekers, dat de dieren met een tekort aan vitamine A het beeld vertoonden van een sterke ondervoeding met alle gevolgen hiervan. Zij namen daarom een nieuwe reeks van proefdieren, die gedurende honderdtachtig dagen een onvoldoende hoeveelheid kregen van een voedsel, dat wel volwaardig was. Deze ratten hadden in dertien procent der gevallen kleine rood-gele, ronde korreltjes gruis in hun blaas, die leken op de uraatneerslagen in de mensenblaas.

Deze stenen waren dus veel kleiner dan die, welke bij de vorige groep ontstonden, bovendien waren zij heel anders van samenstelling en zij kwamen bij een procentsgewijs veel geringer aantal der proefdieren voor.

Het feit, dat er in de laatste gevallen uraten en in de eerste phosphaten neerslaan, wijst in de richting, dat er wellicht een verband bestaat, tusschen de aard van de voeding en de chemische samenstelling der gevonden stenen.

In verband met dit laatste gegeven wijzen de schrijvers er op, dat b.v. in Japan, waar een meer vegetarisch voedsel wordt gegeten, relatief meer oxalaatstenen en minder uraatstenen worden gevonden, dan in Europa, waar meer vleesch wordt gegeten.

ELSIE WATCHORN (1932) die proefnemingen deed over de magnesiumstofwisseling bij ratten, zag dat indien zij ratten een overmaat magnesiumcarbonaat gaf, een vrij groot aantal van

deze dieren steenen in de urinewegen kreeg. Het aantal vrouwelijke ratten, dat steenen kreeg, was in verhouding grooter dan dat der mannelijke dieren.

Gaf zij behalve een zekere hoeveelheid magnesiumcarbonaat ook nog een overmaat calciumcarbonaat bij deze dieren, dan trad er geen steenvorming op.

Geen afwijkingen werden gevonden in de waarden van het calcium, magnesium en anorganisch fosfaatgehalte van het bloedserum.

Extra magnesium-, calcium- of natriumcarbonaat aan het voedsel toegevoegd, deed de uitscheiding van fosphaten in de urine verminderen.

CHARLES C. HIGGINS (1933, 1935) heeft ook gevonden, dat er bij ratten in een vrij hoog percentage der gevallen nier- en blaasstenen ontstonden, indien deze dieren een voedsel kregen, dat een tekort aan vitamine A bevatte. De aldus ontstane steenen waren fosphaatstenen. Hierbij frappeerde het, dat er vrijwel constant drie factoren waren, die misschien hierop van invloed kunnen zijn en wel:

- a) verhoorning van het epitheel van de tractus urogenitalis.
- b) infecties van de urinewegen.
- c) alcalisch worden van de urine.

Indien hij nu de proefdieren calciumchloride of vitamine A gaf, werd de urine zuur en traden er geen steenen op.

Het gelukte vervolgens om bij meerdere dieren, waarbij Röntgenologisch nier- en blaasstenen waren te zien, deze te doen verdwijnen of althans kleiner te doen worden, door deze proefdieren een hoge dosis vitamine A te geven. Hij neemt verder aan, dat er bij een voeding met een tekort aan vitamine A vrijwel ideale verhoudingen aanwezig zijn om steenen te verwekken en wel een neerslaan van kristallen in een oververzadigde alcalische urine te samen met een locale prikkeling ten gevolge van de verhoorning en de desquamatie van het epitheel der urinewegen. Deze laboratoriumervaringen werden nu in de kliniek toegepast. Patienten, die lijdende waren aan nierstenen kregen een dieet, dat rijk was aan vitaminen en speciaal aan vitamine A en dat zoodanig was samengesteld, dat de urine zuur reageerde. Bij achttien patienten, waarbij Röntgenologisch nierstenen waren vastgesteld en die dit dieet kregen, zijn de steenen opgelost of in elk geval aanzienlijk geslonken.

Bij de discussie, die naar aanleiding van deze mededeeling ontstond merkte O'CONNOR op, dat hij zestig patienten gezien had,

die niersteen hadden, na langen tijd sterk alcalisch reagerend dieet te hebben gebruikt, wegens het bestaan van een *ulcus ventriculi* of *ulcus duodeni*.

Het merkwaardigste was, dat deze steenen vrijwel geheel bestonden uit calciumcarbonaat, wat bij den mensch een zeldzame vorm van niersteen is.

Vooruitlopend op hetgeen later bij onze eigen onderzoekingen hieromtrent zal worden medegedeeld, wil ik er hier wel vast de aandacht op vestigen, dat in deze gevallen bij menschen soortgelijke dieeten gegeven zijn, als die, welke wij bij sommige onzer proefdieren hebben toegepast.

Het merkwaardigste is echter wel, dat het gelukte, sommige dezer patienten van hun niersteen te genezen, door hun bij het alcalisch reagerende dieet groote hoeveelheden levertraan te geven.

H. C. HOU (1935) zag dat ratten, die een dieet hadden, waaraan te weinig vitamine A was toegevoegd, alle steenen van de urinewegen kregen, indien zij bovendien een hooge dosis vitamine D in het voedsel hadden. Slechts 30 % van de dieren kreeg steenen, indien vitamine D aan het dieet ontbrak; 50 % van de ratten kreeg steenen indien het dieet een normale hoeveelheid vitamine D bevatte. Een hoog proteïnegehalte en een laag fosfaatgehalte tezamen met een tekort aan vitamine A begunstigten de steenvorming.

Aan den anderen kant deed een laag proteïnegehalte en een hoog zetmeelgehalte het aantal gevallen van niersteen toenemen. Wanneer een dieet, dat veel granen bevatte, werd aangevuld met levertraan kregen albinoratten nooit steenen.

LELESZ en PRZÉDZIECKA (1935) deden waarnemingen bij 142 ratten, die onvoldoende vitamine A kregen. Deze dieren kregen geen steenen bij een tekort aan alleen vitamine A, alleen vitamine B, alleen vitamine D; aan Ca en P; of aan de vitamines A en D tezamen.

Wel echter ontstonden er steenen, indien er behalve een tekort aan vitamine A ook nog een tekort aan calcium en phosphorus optrad. Indien er bovendien nog extra vitamine D werd gegeven, ontstonden de steenen snel. De steenen bestonden uit magnesium- en calciumfosfaat met sporen oxalaat en cholesterol.

Tenslotte wil ik nog de aandacht vestigen op een door MC COLLUM, SIMMONDS en BECKER gedane mededeeling (1924-1925) die steenen zagen optreden bij de door hun gebruikte

rachitogene diëten, die behalve een groote overmaat calcium, voldoende vitamine A in den vorm van botervet of levertraan kregen. Voor zoover wij hebben kunnen nagaan zijn deze proeven echter nooit verder uitgewerkt.

Samenvattend overzicht van de literatuur.

- I. Vrijwel alle schrijvers zijn het er over eens, dat een langdurig tekort aan vitamine A steenen kan doen ontstaan.
- II. Deze steenen zijn voornamelijk fosphaatsteenen, soms ook enkele oxalaat-, carbonaat- en hydroxydesteenen.
- III. De meeste steenen zijn blaassteenen.
- IV. Te veel en te weinig eiwit worden beide als medewerkende factoren genoemd.
- V. Te weinig anorganisch phosphorus zou een medewerkende factor zijn.
- VI. Te veel calcium zou een steenvorming bevorderende factor zijn, hoewel een enkele onderzoeker juist te weinig calcium noemt.
- VII. Sommige graansoorten, speciaal tarwe, zouden een steenvormende factor bezitten.
- VIII. Zoowel overmaat vitamine D, als ook tekort aan vitamine D, worden als medewerkende factoren genoemd.
- IX. Al deze medewerkende factoren zouden onwerkzaam zijn, indien er niet tevens een tekort aan vitamine A in de voeding was. Slechts eenmaal zagen een groep van onderzoekers steenen ontstaan bij een dieet, dat voldoende vitamine A bevatte.

HOOFDSTUK III

EXPERIMENTEEL ONDERZOEK

De directe aanleiding tot het verrichten van de, in dit proefschrift beschreven onderzoekingen was het feit, dat wij, bij het bestudeeren van de literatuur betreffende een onderzoek over de doseering van vitamine A in de vorm van carotine bij ratten, er door getroffen waren, dat de verschillende onderzoekers een zoo groot verschil opgaven in de percentages van steenvorming, bij die dieren, die een tekort aan vitamine A in de voeding hadden.

In het bijzonder frappeerde ons echter de reeds bij het literatuuroverzicht genoemde eerste mededeelingen van MC CARRISON — de latere waren toen nog niet verschenen — over de oorzaken der steenvorming in Indië.

Naar aanleiding van het feit, dat er meer steenen voorkomen in de streken waar veel tarwemeel gegeten wordt, dan in de streken, waar rijst het hoofdvoedsel der bevolking is, deed hij proeven op dieren en zag toen, dat er bij ratten meer steenen ontstonden bij toediening van een voedsel, dat in hoofdzaak uit tarwemeel bestond, dan na toediening van een voedsel, dat voornamelijk havermeel bevatte.

Naar aanleiding van deze laatste mededeeling van MC CARRISON gingen wij nu het gehalte aan calcium en phosphorus van tarwe-, rijst- en havermeel na.

Hieruit bleek ons toen, dat er een groote tegenstelling is in de verhoudingen bij rijstmeel en havermeel eenerzijds en tarwemeel anderzijds.

Wij wilden dus nu nagaan of er misschien verband zou bestaan tusschen de verhouding van calcium en phosphorus in het voedsel en de steenvorming. Bij vroegere onderzoekingen hadden wij gewerkt met een voedsel, dat volwaardig was met uitzondering van vitamine A (voedsel B) en dat ons goed had voldaan als vitamine A vrij voedsel. Dit voedsel was als volgt samengesteld:

- 90 % gemalen witte rijst.
- 3 % droge gist.

- 3 % caseine.
- 3 % zoutmengsel.
- 1 % slaolie „Calvé Delft” met vigantol.

Wij verwerkten in dit voedsel en ook in de overige vitamine A vrije voedsels zooveel vigantol (twee druppels per K.G. voedsel) als juist voldoende was om een normale rat geen rachitis te doen krijgen.

Het caseine van dit voedsel hadden wij vijf maal uitgetrokken met absoluten alcohol en daarna gedurende 24 uur gedroogd bij een temperatuur van 100° - 110° C., terwijl het bloot stond aan de inwerking van de lucht.

Door andere, in dit laboratorium gedane proeven, was het gebleken, dat deze caseine vervangen kon worden door caseine van de British Drug Houses „light, white soluble” zonder dat ons voedsel hierdoor iets meer vitamine A bevatte, hetgeen dus een groote werkbesparing was.

Het zoutmengsel was als volgt samengesteld:

Ca CO ₃	20 gram.
Mg CO ₃	4 gram.
Na ₂ HPO ₄ 2 aq	10 gram.
Na Cl	4 gram.
K Cl	12 gram.

totaal 50 gram.

Aan 49 K.G. hiervan wordt 1100 gram zoogenaamde „extra-zouten” toegevoegd van de volgende samenstelling:

Fe SO ₄ 7 aq	500 gram.
Na ₂ Si ₂ O ₄ 2 aq	500 gram.
aluin	350 gram.
Zn SO ₄ 7 aq	200 gram.
Cu SO ₄ 5 aq	30 gram.
Mn SO ₄ 4 aq	30 gram.
Ni SO ₄ 7 aq	10 gram.
Co SO ₄ 7 aq	5 gram.
Br	25 gram.
K J	0,5 gram.
Na F	10 gram.
As ₂ O ₃	0,25 gram.
Borax	5 gram.
Na molybdaat 2 aq	5 gram.

Dit mengsel wordt verhit op 100° C, totdat al het water

uitgedampt is en daarna aan het gewone zoutmengsel toegevoegd.

Wij begonnen nu met de samenstelling van twee voedsels, die elk geen vitamine A bevatten en waarvan het eene een extra hoeveelheid van 3 % Ca CO_3 en het andere een extra hoeveelheid van 3 % KH_2PO_4 bevatte.

Deze voedsels waren dus samengesteld uit *Basis I* (88 % witte gemalen rijst, 3 % caseïne, 3 % droge gist, 2 % zoutmengsel, 1 % slaolie met vigantol) en respectievelijk 3 % der bovengenoemde zouten (Ca CO_3 en KH_2PO_4).

Wij gaven deze voedsels aan jonge albinoratten en wachtten tot ze doodgingen, waarna er bij de sectie speciaal op steenen werd gelet. Wij noemden deze voedsels respectievelijk LP en LR. (Zie tabellen I en II aan het slot van dit hoofdstuk.)

De resultaten, die deze tabellen ons leeren, zijn de volgende:

Op 29 ratten met voedsel LP. kwamen voor:

bij 8 ratten blaasstenen.

bij 2 ratten nierstenen.

bij 8 ratten blaas- en nierstenen.

Op 30 ratten met voedsel LR kwamen voor:

bij 4 ratten blaasstenen.

bij 2 ratten nierstenen.

bij 1 rat blaas- en nierstenen.

Wij willen er bij het beschrijven van deze tabellen reeds direct de aandacht op vestigen, dat indien er in de laatste kolom „bijzonderheden” vermeld staat aether, chloroform of gas, het dier gedood is.

In onze eerste proefreeksen hebben wij vrijwel steeds gewacht tot de dieren vanzelf dood gingen, maar aangezien dan het materiaal voor het pathologisch-anatomisch onderzoek van deze preparaten bijna onbruikbaar was, zijn wij er later meermalen toe overgegaan, de dieren te doden, hetgeen dan steeds op de bovengenoemde wijze vermeld staat.

De mogelijkheid bestond nu, dat deze verschillen misschien verklaard zouden kunnen worden uit het feit, dat het voedsel met een extra hoeveelheid Ca CO_3 basisch en het voedsel met een extra hoeveelheid KH_2PO_4 zuur reageert. Derhalve besloten wij nu het Ca CO_3 te vervangen door natriumcitraat en het KH_2PO_4 te vervangen door NH_4Cl , om aldus wel is waar een basisch en een zuur reagerend voedsel te hebben, evenwel met

andere zouten. Deze voedsels noemden wij NS en NT. (Zie tabellen III en IV.)

De resultaten, die deze tabellen ons leeren zijn de volgende:

Op 24 ratten met voedsel NS kwamen voor:

bij 0 ratten blaasstenen.

bij 0 ratten nierstenen.

bij 0 ratten blaas- en nierstenen.

Op 20 ratten met voedsel NT kwamen voor:

bij 2 ratten blaasstenen.

bij 2 ratten nierstenen.

bij 1 rat blaas- en nierstenen.

Hieruit bleek dus, dat onze geopperde veronderstelling, dat een basisch reageerend dieet samen met gebrek aan vitamine A een oorzaak voor de vorming van nierstenen en blaasstenen zou zijn, onjuist was. Wel konden wij besluiten, dat wij relatief veel steenen zagen bij de groep LP, dus met extra 3 % Ca CO_3 bij het voedsel en zonder vitamine A.

Vanzelfsprekend is het, dat alle bij deze proeven gebruikte ratten stierven met de verschijnselen van een tekort aan vitamine A. Voor de uitvoerige sectieverslagen van al deze dieren verwijs ik naar het artikel van Dr. PH. ARONS en Mej. M. P. J. VAN DER RIJST, die ook de verdere secties bij onze onderzoekingen hebben verricht.

Onze volgende proefnemingen gingen in een eenigszins andere richting. Bij het bestudeeren van de betreffende literatuur hadden wij gezien, dat het nog nooit gelukt was experimenteel uraatstenen te verwekken. Wij wilden nu ook een poging in deze richting wagen en gaven aan zes ratten een voedsel van gansch andere samenstelling, met zeer veel proteïnen en met een tekort aan vitamine A. Dit voedsel was ND genaamd en bestond uit:

85 % droog vleeschmeel, driemaal geëxtraheerd met warmen alcohol van 96 %.

10 % droge gist.

4 % van het bovengenoemde zoutmengsel.

1 % slaolie „Calvé Delft” met vigantol.

(Zie tabel V.)

De resultaten hiervan waren bij zes ratten, dat ze wel is waar stierven aan de verschijnselen van een tekort aan vitamine A.

maar dat geen niersteen en of blaassteen werden gevonden.

Door bemiddeling van Dr. Ir. H. J. PRINS ontvingen wij van de N.V. Ned. Thermochemische fabriek te Amsterdam een hoeveelheid „extract-diermeel” en daarmee werden deze proeven nog eens overgedaan met 14 ratten. (Zie tabel VI.)

Van deze 14 ratten stierven er na eenige maanden 3 zonder eenig verschijnsel van een tekort aan vitamine A of van niersteen en blaassteen, terwijl de overige 11 na 30 weken werden gedood, waarbij ook niets bijzonders werd gevonden. Onze pogingen om bij ratten uraatsteen te doen ontstaan hebben dus gefaald.

Wij waren thans zoover, dat wij bij één onzer voedsels (met tekort aan vitamine A en 3 % extra Ca CO_3 in het voedsel) relatief meer steenen zagen ontstaan dan bij de overige. Wij wilden nu nagaan of het misschien mogelijk zou zijn ook steenen te doen ontstaan door wel voldoende vitamine A te geven, maar alleen de zoutverhoudingen in ons voedsel te veranderen.

Wij maakten dus eerst een voedsel, dat 3 % Ca CO_3 extra bevatte en wij gaven nu in plaats van 1 % slaolie „Calvé Delft” met vigantol vermengd, zooals in ons basisvoedsel I, 1 % levertraan (jecovitol).

Bij de nu volgende proeven gaan wij dus steeds weer uit van een Basisdieet II, dat bestaat uit:

- 3 % caseïne,
- 3 % droge gist,
- 2 % zoutmengsel,
- 1 % gestandaardiseerde levertraan,

aangevuld met gemalen witte rijst tot 100 %, met aftrek van de extra gegeven hoeveelheid van het een of andere zout.

Het eerste voedsel, dat nu door ons werd gemaakt, bevatte dus Basis II + 3 % Ca CO_3 (voedsel NE). (Zie tabel VII.)

In bovenstaande tabel zijn vermeld 23 ratten, die alle bovengenoemd voedsel hebben gekregen en die na verloop van eenigen tijd van zelf zijn doodgegaan.

Er zijn gevonden driemaal blaassteen; drie maal niersteen en twaalf maal nier- en blaassteen, terwijl slechts vijf dieren bij de sectie geen steenen hadden.

Of deze dieren ook tijdens hun leven nooit steenen hebben gehad is echter niet met zekerheid te zeggen, daar er best steenen kunnen zijn geweest, die uitgewaterd zijn; te meer waar in het sectieverslag althans van eenige dezer dieren vermeld staat, dat er een verwijd nierbekken is gevonden.

Op deze wijze is het ons dus gelukt bij een betrekkelijk groote groep ratten in een zeer hoog percentage der gevallen niersteen en blaassteen te doen ontstaan, zonder dat er een tekort aan vitamine A in het voedsel is.

De duur van deze proeven varieert van zes tot ruim honderd weken, terwijl het merkwaardig is, dat één rat, die 129 weken in de proef is geweest, bij de sectie geen steenen heeft vertoond.

Bij eenige van deze ratten trad ascites op; een verschijnsel, dat wij naderhand nooit meer hebben zien optreden en waarvoor wij dan ook geen verklaring durven te geven.

Vrijwel steeds was het mogelijk in de latere stadia de nieren als groote tumoren te voelen door den buikwand heen, terwijl het een enkele maal ook mogelijk was een groote opgezette blaas vol kleine steentjes door den buikwand heen duidelijk te palpeeren. Deze uitkomsten konden met Röntgenphoto's gecontroleerd worden. De ratten, die dit voedsel kregen, zagen er gezond uit; zij groeiden goed en normaal en vertoonden uiterlijk geen enkele afwijking. Zij gaven nooit eenige uiting van pijn; zij zaten steeds, ook indien zij in de laatste stadia verkeerden, rustig in hun kooi en ook de uitwendige palpatie veroorzaakte hun, voor zoover wij konden nagaan, geen pijn. Bij de sectie bleken deze steenen ook nooit scherpe randen of hoeken te hebben, zooals wij dat juist zoo vaak bij oxalaatsteenen zien.

Bovengenoemde proef is nu de basis geweest voor ons verder onderzoek.

In de eerste plaats hebben wij nagegaan of het ook mogelijk was bij andere dieren dan ratten met hetzelfde voedsel steenen te verwekken. Wij namen hiervoor jonge witte muizen en gaven deze ons voedsel N E. (Zie tabel VIII.)

Zooals uit bovenstaande tabel blijkt, kwam bij geen der negentien beesten steenen voor. De muizen groeiden goed en vertoonden met name geen verschijnselen van een tekort aan vitamine A. Om voor dit feit een verklaring te geven, is niet eenvoudig en wij willen dan ook liever, zonder ons aan allerlei theoretische bespiegelingen te wagen, dit zonder meer constateeren.

Wel bewijst het nog eens te meer, dat men zeer voorzichtig moet zijn met het vergelijken van wat bij dierproeven wordt gevonden, met de menschelijke pathologie, wanneer er reeds zulke groote verschillen bij toch ongetwijfeld zeer nauw aan elkaar verwante diergroepen bestaan.

Wij namen verder proeven met jonge cavia's, die wij ook dit voedsel gaven met 2 $\times$ per week 10 mgr. ascorbinezuur opge-

lost in een beetje water, extra per os. Dit laatste deden wij om de cavia's vitamine C toe te voeren, wat, zooals men weet, ratten niet noodig hebben.

De cavia's lustten dit voedsel echter niet, en weigerden er van te eten. Indien een van de dieren stierf, moesten wij het snel uit den bak wegnemen, daar de anderen het anders opaten.

Na eenigen tijd waren alle cavia's dood, daar zij dit voedsel eenvoudig niet aten. Bij de sectie werden geen bijzonderheden gevonden.

Wij hebben toen geprobeerd cavia's te voeden met gemalen haver en hier doorheen ons voedsel NE te mengen, maar ook dit mocht niet baten.

Tenslotte hebben wij toen besloten hun een gemengde voeding te geven, bestaande uit brood met water gekneeld, wortelen, sla, kooltjes en wat er verder maar was. Dagelijks werd dan hun rantsoen gewogen en drie procent van de totale gewichtshoeveelheid aan Calciumcarbonaat werd dan door het brood, dat met water werd gekneeld, gemengd. Aldus kregen zij een voedsel, dat eenigszins geleek op dat, wat de ratten en muizen hadden gehad. De beesten groeiden nu flink en vertoonden niets bijzonders. (Zie tabel IX.)

Uit bovenstaande tabel kunnen wij dus lezen, dat het ook bij cavia's niet mocht gelukken, om met een voedsel, dat vrijwel overeenkomt met het voedsel, dat bij ratten wel steenen doet ontstaan, deze te verwekken. Deze proeven hopen wij echter later meer uitvoerig nogmaals te verrichten.

De volgende proevenreeks, die wij namen, had tot doel om te zien of er misschien een verschil zou bestaan tusschen de steenvorming bij jonge albinoratten en bij oude dieren. Twee redenen hebben er hiervoor bij ons bestaan. In de eerste plaats had iedereen altijd met jonge ratten en nog nooit met oudere beesten experimenten genomen en in de tweede plaats is het een bekend feit, dat in die streken, waar blaassteenlijden een veel voorkomende ziekte is, het speciaal de kinderen zijn, die hierdoor ziek worden.

Wij namen dus volwassen ratten, meestal „kweekratten”, d.w.z. dieren, die meermalen jongen ter wereld hadden gebracht, waarvan de mannetjes ongeveer 250-300 gram wogen en de wijfjes ongeveer 200-225 gram. Deze dieren kregen het voedsel NE (Basis II + 3 % CaCO_3), groeiden hierop goed en kregen geen enkel verschijnsel van tekort aan vitamine A. (Zie tabel X.)

De resultaten, die wij uit deze tabel kunnen lezen zijn dus, dat er bij 46 dieren drie maal blaassteen, drie maal niersteen en drie maal nier- en blaassteen optrad. Helaas zijn eenmaal per ongeluk zes ratten met lichtgas gedood, die slechts 9 weken in de proef waren geweest, maar dat kan niets veranderen aan het feit, dat wij hier toch geheel andere cijfers te zien krijgen dan bij jonge ratten, die hetzelfde voedsel krijgen. Ook hier geldt dus weer hetzelfde wat wij reeds eerder hebben gezegd, dat wij het feit, dat bij oude ratten, die hetzelfde voedsel krijgen als jonge ratten, veel minder steenen optreden, zonder meer zullen constateeren. Hoe dit eventueel kan worden verklaard, daarover durven wij ons voorshands geen oordeel te vormen.

Zooals wij reeds eerder hebben gezegd, hadden wij af en toe van onze ratten, die wij er van verdachten, dat zij reeds nier- en blaassteen hadden, Röntgenphoto's gemaakt. Nu bleek het dat meermalen, indien er op de photo's reeds groote nieren en een blaas vol steenen te zien waren, deze dieren toch rustig nog maandenlang hiermede voortleefden, zonder dat er „klinisch" iets bijzonders aan hen viel op te merken.

De levensduur van de ratten gaf ons dus geen inzicht in den tijd, die er noodig was om steenen te doen ontstaan.

Wij besloten daarom een groot onderzoek in te stellen naar den tijd, die er noodig is om steenen te doen ontstaan.

Telkens weer werden groepen van jonge dieren op ons voedsel NE (Basis II + 3 % Ca CO_3) gezet en na een bepaald aantal weken gedood, waarna de blaas en de nieren nauwkeurig op de aanwezigheid van steenen werden onderzocht. Nooit werden verschijnselen van een tekort aan vitamine A gevonden; hoewel eenige groepen nog wel carotine extra hadden gehad, traden ook hier even goed steenen op als bij de andere groepen. (Zie tabel XI.)

Bovenstaande tabel, waarin 158 proefdieren zijn opgenomen, leert ons, dat bij deze jonge dieren reeds snel steenen optreden en wel speciaal bij de mannetjes. Slechts bij een enkele groep (4 weken) zien wij meer steenen bij de wijfjes optreden. Voor dergelijke vreemde waarnemingen, dat een diergroep in eens heel andere resultaten oplevert, dan alle andere, bestaat geen enkele verklaring. Nog eens te meer moet men door dergelijke waarnemingen er voor gewaarschuwd worden, alleen uit groote reeksen van dierproeven zijn conclusies te trekken, om aldus de toevalligheden zoo veel mogelijk uit te sluiten. Wanneer wij

deze gegevens iets nauwkeuriger bezien, dan blijkt het dat bij 83 mannetjes, 49 maal blaasstenen en 33 maal nierstenen zijn voorgekomen. Bij 75 wijfjes, die vrijwel even lang in de proef zijn geweest, 7 maal blaasstenen en 7 maal nierstenen.

Deze cijfers zijn groot genoeg om dus te kunnen zeggen dat in elk geval de steenvorming eerder optreedt bij mannetjes dan bij wijfjes en dat waarschijnlijk meestal het eerst blaasstenen zullen optreden.

Speciaal willen wij er hier den nadruk op leggen, dat er in dit door ons gebruikte voedsel niet zulke abnormaal groote hoeveelheden Ca zijn verwerkt. Immers speciaal bij allerlei rachitogene dieeten wordt een dergelijke overmaat Ca meermalen gegeven.

In het begin van de beschrijving van onze eigen dierproeven hebben wij gezegd, dat wij wilden nagaan of het mogelijk was steenen te doen ontstaan, door wel voldoende vitamine A te geven, maar alleen de zoutverhoudingen te veranderen en dat wij daartoe dus het boven beschreven voedsel NE (Basis II + 3 % Ca CO₃) hebben bereid.

Tegelijkertijd gaven wij echter een andere groep dieren, als contraproef, een volwaardig voedsel, waaraan 3 % KH₂PO₄ was toegevoegd en dat dus zuur reageerde. (Zie tabel XII.)

De 11 ratten, die dit voedsel kregen leefden alle lang en bij de sectie vertoonden zij nooit iets bijzonders. Steenen kwamen er niet bij voor en macroscopisch waren er verder geen bijzonderheden.

Het was thans voor ons noodzakelijk om na te gaan of het door ons gebruikte voedsel, waaraan 3 % Ca CO₃ was toegevoegd, een minimum, maximum of optimum gehalte aan Ca CO₃ bevatte om steenen te verwekken. Daartoe namen wij de volgende proeven.

In de eerste plaats gaven wij een groep ratten een voedsel, waaraan niet 3 % maar 6 % Ca CO₃ was toegevoegd. (Zie tabel XIII.)

Van de 10 dieren, die dit voedsel kregen, stierf er slechts één zonder steenen; dus dit klopt geheel met de verwachtingen. Als controeproof probeerden wij of 2 % Ca CO₃ aan het voedsel toegevoegd ook reeds steenen deed ontstaan. (Zie tabel XIV.)

Bij 21 dieren, die dit voedsel kregen, kregen er 0 blaasstenen, 1 niersteen en 9 blaas- en nierstenen, dus wel traden hier minder steenen op, maar toch nog wel vrij vaak kwam steenlijden voor.

Geheel anders ging de tabel er echter uitzien, indien wij slechts 1 % Ca CO_3 extra gaven. (Zie tabel XV.)

Van de 22 dieren, die met dit voedsel werden gevoed, kregen er slechts 2 steenen; dus inderdaad schijnt het, dat bij het door ons gebruikte dieet een hoeveelheid van 3 % Ca CO_3 aan het voedsel toegevoegd reeds voldoende is, om steenen te verwekken. In dit verband wilden wij ook nagaan of de eigenlijke oorzaak van de steenvorming misschien toch niet te vinden zou zijn in de extra-hoeveelheden Ca CO_3 die werden gegeven, maar in de gewone zouten, die in dit dieet zaten. Het zou namelijk mogelijk kunnen zijn, dat wij door de calciumcarbonaat er bij te geven zulke fouten in de minerale stofwisseling veroorzaakten, dat de andere zouten, die ook in het weefsel zitten, steenvorming veroorzaken. Daartoe gaven wij een groep dieren een dieet, dat nu niet bevatte de bij de samenstelling van de dieeten genoemde zouten (zie bldz. 18) behalve de daar genoemde „extrazouten”. (Zie tabel XVI.)

Zooals uit deze diergroep blijkt kwamen ook hier steenen zeer frequent voor, maar wat veel merkwaardiger was, deze dieren stierven alle na eenige weken met de typische verschijnselen van een avitaminose A.

Blijkbaar is er dus, door de veranderde zoutverhoudingen in dit voedsel, iets met het vitamine A gebeurd, waardoor dit onwerkzaam is geworden. Nog twee maal vaker hebben wij bij een ander voedsel deze verschijnselen gezien, waarop wij later nog zullen terugkomen.

Wij besloten dus nu deze proef nog eens over te doen, terwijl wij de dieren twee maal per week een voldoende hoeveelheid levertraan per os gaven. (Zie tabel XVII.)

Bij de 7 hiervan gebruikte dieren trad 5 $\times$ steenen op, zoodat het dus wel duidelijk is, dat de steenen veroorzakende factor, in de toegevoegde hoeveelheid Ca CO_3 te zoeken is.

Thans ging het er voor ons om, na te gaan of het de typische werking was van het calciumcarbonaat of dat alle calciumzouten in staat waren in deze concentratie steenen te verwekken.

Wij gaven dus nu in plaats van 3 % Ca CO_3 , 3 % Ca Cl_2 om aldus het voedsel zuur te doen reageeren en toch een ongeveer gelijke calciumhoeveelheid in het voedsel te hebben. (Zie tabel XVIII.)

Bij de 8 dieren, die dit voedsel kregen, traden 3 $\times$ steenen op, maar ook bij deze dieren meenden wij bij de sectie verschijnselen van een tekort aan vitamine A te zien. Bij 2 der

dieren traden tijdens het leven oogverschijnselen op, die zeer veel geleken op xerophthalmie. Ook deze proef deden wij dus over, waarbij wij ook nu weer de dieren levertraan per os gaven. Bij de macroscopische zoowel als bij de microscopische bestudeering der organen na de sectie, werden nu nooit meer A tekortverschijnselen gezien. De resultaten van deze proef staan in onderstaande tabel vermeld. (Zie tabel XIX.)

Bij 12 dieren traden nooit steenen op. Het is dus wel heel waarschijnlijk dat het de combinatie van alcalische urine met een overmaat calciumcarbonaat in het voedsel is, die de steenen doet ontstaan.

Wij hebben ook nog proefnemingen gedaan met een indertijd in Nederland veel gebruikt kalkpreparaat, het kalzanpoeder. De firma N.V. A. Wulfing en Co.'s chemische producten te Amsterdam was zoo vriendelijk ons steeds weer de benodigde hoeveelheden van dit preparaat ter beschikking te stellen.

Zooals door de firma wordt opgegeven, bestaat het door ons gebruikte kalzanpoeder uit calcium-natriumlactaat 50 % en suiker 50 %. Deze uitkomsten zijn in 1933 gecontroleerd door het Rijks-instituut voor pharmaco-therapeutisch onderzoek en juist bevonden.

A priori was het niet waarschijnlijk dat indien wij in plaats van calciumcarbonaat, calciumlactaat gaven, er geen steenen zouden ontstaan, daar toch de onder normale omstandigheden, b.v. bij de spiercontractie onstaande lactaten in ons lichaam, tot carbonaten worden omgezet.

Maar eenerzijds om na te gaan of de nieuwe factor, het Natrium, wat hier ook in zit, een rol speelt, anderzijds om toch ook eens met lactaten, die in de kliniek veelal worden gebruikt, te experimenteren, hebben wij hiermee proeven genomen.

Wij gaven één groep een dieet waarin behalve 30 % kalzanpoeder ook nog een tekort aan vitamine A was en een andere groep 30 % kalzanpoeder, met 1 % levertraan (jecovitol). Wij gaven zulke groote hoeveelheden van deze stof, omdat wij er slechts aldus in konden slagen een hoeveelheid Ca te geven, die overeenkomt met 3 % Ca CO_3 , daar toch hierin relatief veel meer Ca zit, dan in Ca lactaat. (Zie tabellen XX en XXI.)

Het bleek al spoedig dat beide diergroepen snel dood gingen, met steenvorming en de verschijnselen van een tekort aan vitamine A.

Ook bij dit voedsel hebben wij, dus voor de derde maal, weer het verschijnsel, dat er met het vitamine A in het voedsel iets

is gebeurd, waardoor het onwerkzaam is geworden. Geen wonder dat wij bij onze andere voedsels constant speciaal letten op verschijnselen van vitamine A tekort, daar dit toch juist een factor is, die wij voor alles moeten uitsluiten. Nooit echter is hiervan iets gezien, noch tijdens het leven, noch bij de secties of bij het postmortale microscopische pathologisch-anatomische onderzoek.

Wij gaven dus nu weer een groep van dieren hetzelfde dieet, maar ook nu weer, evenals wij dat vroeger hebben gedaan, twee maal per week levertraan per os. (Zie tabel XXII.)

Uit deze tabel blijkt heel duidelijk, dat bij een extra hoeveelheid Calcium-natriumlactaat in den vorm van „Kalzanpoeder” bij het voedsel gegeven, die equivalent is met 3 % Ca CO_3 wel blaas- en nierstenen ontstaan. Het is echter wel waarschijnlijk dat de stenen hier later optreden.

Om nu verder na te gaan of het Natriumlactaat de steenvorming zou kunnen voorkomen, gaven wij een reeks proefdieren ons steenvormende dieet (N E) met extra 8 % Natriumlactaat. (Zie tabel XXIII.)

De resultaten van bovenstaande tabel geven duidelijk te zien dat het Natriumlactaat dus niet in staat is bij ons steenvormend dieet de steenvorming te voorkomen.

Wij hebben ook nog proeven genomen, waarbij aan het voedsel in plaats van 3 % Ca CO_3 , uitsluitend 7 % Calciumlactaat werd toegevoegd. (Zie tabel XXIV.)

Ook bij dit voedsel treden dus wel stenen op en ook weer eerder bij de mannetjes dan bij de wijfjes.

Een kleine zijsprong maakten wij van ons eigenlijk onderzoek, nadat wij de in het literatuuroverzicht genoemde proeven van ELSIE WATCHORN hadden gelezen. Deze onderzoekster was er immers in geslaagd bij sommige ratten, door hun een overmaat magnesiumcarbonaat te geven, stenen te verwekken.

Wij besloten toen eerst ons voedsel zoodanig te wijzigen, dat wij in plaats van 3 % Ca CO_3 nu 3 % Mg CO_3 extra gaven; maar toen wij na ongeveer een half jaar deze ratten dood maakten bleek er bij de sectie niets bijzonders aanwezig te zijn. (Zie tabel XXV.)

Daarna hebben wij nog eens soortgelijke proeven genomen, waarbij wij een voedsel gebruikten, dat wat zijn samenstelling betreft zeer veel geleek op het voedsel, dat WATCHORN gebruikte. Het was als volgt samengesteld:

25 %	caseïne.
40 %	rijstzetmeel.
17 %	suiker.
15 %	vet (Delphia).
3 %	zoutmengsel.
1 %	Ca CO ₃ .
6 %	Mg CO ₃ .
5 %	marmite.
1 %	levertraan.

Het zoutmengsel bestond uit:

Na Cl	51,9	deelen.
Na ₂ HPO ₄ 2H ₂ O	166,1	deelen.
KH ₂ PO ₄	386,0	deelen.
ijzercitraat	35,4	deelen.
kaliumjodide	1,0	deelen.
mang.sulfaat	0,2	deelen.
natriumfluoride	0,04	deelen.

(Zie tabel XXVI).

Indien wij onze ratten bovenstaand voedsel gaven, groeiden zij slecht en de meeste stierven reeds na enkele weken. Bij de sectie werden nooit verschijnselen van een tekort aan vitamine A gezien; wel zagen wij twee maal in de nieren en eenmaal in de blaas enkele korreltjes gruis, die er heel anders uitzagen dan onze gewone steenen.

Verder zijn wij met deze proeven nog niet gekomen, doch het is niet onwaarschijnlijk, dat wij ook in deze richting ons onderzoek nog verder zullen voortzetten.

Wederom een andere proef hebben wij genomen, nadat wij kennis hadden gekregen van een merkwaardig geval uit de kliniek van Prof. P. RUITINGA, ons medegedeeld door Dr. J. G. G. BORST.

Op diens afdeeling werd verpleegd een patient, die lijdende was aan diabetes mellitus en aan een pyelitis. Patient werd hiervoor behandeld met wisselende poeders, die de urine om beurten zuur en alcalisch deden worden. Van de poeders, die de urine zuur maakten, kreeg de patient allerlei bezwaren en daarom werden hem gedurende langen tijd de alcalisch makende poeders gegeven, waardoor hij per dag o.a. 12 gram Na HCO₃ naar binnen kreeg. Na eenigen tijd kreeg patient een typische aanval van een nierstenkoliek en ook op de Röntgenphoto's waren

duidelijk steenen te zien. De steenen werden spontaan uitgewaterd en zij bleken te bestaan uit Ca CO_3 . Dit is uitermate merkwaardig, daar toch carbonaatsteenen in de menschelijke pathologie, in deze streken althans niet voorkomen. Of de steenen niet aanwezig waren voor de Na HCO_3 behandeling is niet met zekerheid uit te maken, daar er van voor dien tijd geen Röntgenphoto's aanwezig zijn.

Dit was voor ons de aanleiding om proeven te nemen met een dieet, dat nu niet 3 % Ca CO_3 extra bevatte, maar 3 % Na HCO_3 .

Ook hiermede zijn wij nog niet geheel gereed, maar wel kunnen wij vast mededeelen, dat bij de eerste groep van zes dieren, waarvan de meeste meer dan een jaar in de proef zijn geweest, nooit steenen zijn gevonden; terwijl er bij de volgende groepen, die nu acht en zes maanden in de proef zijn, nog nooit iets van steenvorming is gezien.

Een geheel ander deel van ons onderzoek, dat nog niet is afgewerkt, doch waarvan wij al een eerste mededeeling op deze plaats kunnen geven, is verricht op advies van Prof. SNAPPER.

Wij gingen hierbij uit van de door CARL NEUBERG (1916) voor het eerst beschreven eigenschap van bepaalde stoffen, die een zoogenaamd hydrotrope werking hebben.

Hiermede wordt bedoeld, dat de waterige oplossingen van deze zouten het vermogen hebben, om in water onoplosbare stoffen in waterige oplossing over te doen gaan.

In het bijzonder bleek het, dat een waterige oplossing van benzoëzure- of hippuurzure natrium zeer vele stoffen, die met water niet zijn te vermengen of hierin niet of nauwelijks oplosbaar zijn, tot in water oplosbare stoffen kan maken.

Bij uitvoerige onderzoeken bleek het nu, dat de zouten van benzoëzuur, salicylzuur en isovaleriaanzuur, het vermogen bezitten, om onder andere calciumcarbonaat op te lossen of in elk geval het neerslaan hiervan te verhinderen.

Deze proeven boeten echter veel van hun waarde in, daar immers de hoeveelheden gebruikte zouten, die een hydrotrope werking hebben, zeer groot zijn, zulks in tegenstelling tot de onderzoeken van VERZÁR (1931), die uitvoerige proeven heeft gedaan betreffende de resorptie in de darmen en vond dat vooral ook de galzuren een sterk hydrotrope werking hebben, die een bijzondere rol speelt bij de vetresorptie.

Onder andere ging deze onderzoeker de oplosbaarheid na van Ca CO_3 in Natriumsalicylaat en hierbij bleek het dat er bij

een toenemende concentratie van natriumsalicylaat ook een verhoogde concentratie van het opgeloste calcium aanwezig is.

Van deze waarnemingen uitgaande hebben wij toen, op advies van Prof. SNAPPER een voedsel gemaakt, waaraan behalve 3 % Ca CO_3 extra nog $\frac{1}{10}$ % benzoas natricus was toegevoegd. Aldus hoopten wij een voedsel te krijgen, waarbij het calciumcarbonaat in de urine niet zou neerslaan; maar dat dit proces tegengehouden zou worden door het gevormde hippuurzuur. De voorloopige resultaten zijn hieronder vermeld.

(Zie tabel XXVII.)

Deze tabel ziet er inderdaad anders uit dan die van het voedsel N E. Slechts drie van de twaalf hiervoor gebruikte dieren kregen steenen, maar merkwaardigerwijze stierf er reeds één na pas 9 weken het voedsel te hebben gekregen, met nier- en blaasstenen.

Wij zijn thans doende, deze proeven uit te breiden en in deze richting voort te zetten; voorschands moeten wij dus nog zeer voorzichtig zijn hieruit reeds conclusies te trekken.

Nu wij vrijwel aan het eind zijn gekomen van de beschrijving der door ons genomen dierproeven, wil ik nog op drie feiten de aandacht vestigen.

In de eerste plaats hebben wij nog een bewijs gekregen voor het feit, dat dieren, die gedurende langeren tijd ons steenvormend dieet (N E) kregen, zeker geen tekort aan vitamine A hadden.

Wij gaven n.l. een paar volwassen ratten dit dieet en deze dieren, die gedurende meer dan een jaar gewoon dit voedsel kregen, hebben evenals de andere ratten normaal telkens jongen gekregen. Er was niets van verminderde vruchtbaarheid bij deze dieren te zien, een verschijnsel, wat bij A tekort pleegt op te treden.

In de tweede plaats willen wij nog iets zeggen over eenige proeven, die wij nog onder handen hebben en die nog niet geheel afgelopen zijn.

Behalve dat wij verder gaan met de proeven, met natriumbicarbonaat en de proeven met benzoëzuur, die wij reeds boven hebben genoemd, hebben wij ook nog proeven ingezet met Calciumglyconaat, het calciumpreparaat, dat den laatsten tijd in de kliniek zeer veel wordt gebruikt.

Verder hebben wij nog een ander voedsel gemaakt, waarbij wij ons door de volgende overwegingen hebben laten leiden.

Groote waarde hecht men aan een juiste Calcium/phosphaat balans en het zou best mogelijk zijn, dat de groote overmaat

calciumcarbonaat in ons steenvormend voedsel onwerkzaam zou zijn, indien tegelijkertijd het fosphaatgehalte evenredig hiermede werd verhoogd.

Bij een onderzoek bleek nu dat de verhouding Ca/P bij dit voedsel ± 5 was. De normale verhouding is $\text{Ca/P} = \pm 3/2$. Wij maakten nu een voedsel, waarbij ongeveer evenveel Calcium extra werd gegeven als bij ons steenen vormend voedsel, maar nu werd zooveel phosphorus bijgegeven, dat de Ca/P verhouding ongeveer $3/2$ was.

De dieren, die dit dieet krijgen, staan pas ongeveer zes maanden in de proef, zoodat ook hierover nog geen definitieve gegevens te onzer beschikking staan.

De volgende stap, die wij daarna hopen te doen en waaraan wij ook reeds thans begonnen zijn, is om ook therapeutische proeven te nemen. Wij zullen daartoe eerst ratten op de bovenvermelde wijze steenen doen krijgen en indien deze eenige malen Röntgenologisch zijn aangetoond, willen wij trachten ze te doen verdwijnen. Daartoe zullen wij zoowel proeven nemen, waarbij een voedsel wordt gegeven, waardoor de urine zuur wordt (b.v. Ca Cl_2) alsook proeven met hippuurzuur en met groote dosis vitamine A, om na te gaan of er aldus ook in dit opzicht iets te bereiken is.

De reden, dat wij toch meenden reeds thans de bereikte resultaten te moeten mededeelen, is gelegen in het feit, dat de groote moeilijkheid bij al deze experimenten is, dat zij zoo veel tijd vorderen en dat telkenmale een groote groep dieren voor elk onderzoek moet worden gebruikt, om het toeval zoo veel mogelijk uit te sluiten.

Wat betreft het chemische onderzoek van deze steenen, een nauwkeurig quantitatief analytisch onderzoek hiernaar heeft nog niet plaats gehad. Wel kunnen wij mededeelen, dat een kwalitatief onderzoek, bij een twintigtal steenen verricht, heeft aangetoond, dat zij vrijwel geheel bestaan uit calciumcarbonaat, vermengd met een weinig calciumphosphaat.

Wat betreft de frequentie van nierstenen bij ratten, kunnen wij mededeelen, dat bij de vele honderden secties, die gedaan zijn op dit laboratorium, slechts vier maal steenen zijn voorgekomen bij ratten die voldoende vitamine A kregen. Van deze vier gevallen zijn er drie geheel in overeenstemming met onze eigen onderzoekingen. Deze traden n.l. op bij oude ratten, die gedurende meer dan een jaar op een rachitogeen dieet waren gezet, waaraan o.a. 5 % Ca CO_3 was toegevoegd. Wel verbaast

het ons, dat wij, behoudens één enkele uitzondering, die wij aan het eind van ons literatuuroverzicht dan ook hebben genoemd, nooit iets hebben gelezen van het voorkomen van steenen bij dieren, die rachitogeen voedsel krijgen, daar toch heel vaak ook hierin veel calcium zit. Waarschijnlijk komt dat, doordat deze proeven meestal niet lang worden doorgezet. De eenige keer dat men op dit laboratorium „spontaan” een steen zag optreden, was bij een rat, die een vitamine B vrij voedsel kreeg en waarvoor geen verklaring is gegeven.

TABEL I

VOEDSEL L P

Basis I

3 % Ca CO_3

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijsen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonderheden
2613	+	7	+	—	—	
2614	+	14	+	+	+	
2615	O_3	9	+	—	+	
2616	+	7	+	—	—	
2617	O_3	7	+	—	—	
2618	+	13	+	—	—	
2859	O_3	$5\frac{1}{2}$	+	—	—	
2860	+	6	+	+	—	
2861	O_3	$5\frac{1}{2}$	+	—	+	
2862	+	6	+	—	+	
2863	+	7	+	—	—	
2864	+	$5\frac{1}{2}$	+	—	+	
3153	+	6	—	—	—	
3154	O_3	6	—	+	+	
3155	+	9	+	—	+	
3156	+	6	+	—	+	
3157	O_3	$5\frac{1}{2}$	+	—	—	
3158	+	$5\frac{1}{2}$	?	?	—	
3440	+	8	+	—	—	
3441	+	7	+	+	—	
3442	O_3	6	+	—	+	
3443	O_3	6	+	—	+	
3444	+	8	+	+	+	
3445	O_3	6	+	+	+	
7131	O_3	5	+	+	+	
7133	O_3	4	+	+	+	aether
7134	+	4	—	+	+	
7135	O_3	5	+	+	+	chloroform
7136	+	2	—	—	—	chloroform

TABEL II

VOEDSEL L R

Basis I

3 % KH_2PO_4

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijn- selen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonder- heden
2282	Q_3	14	+	—	+	
2619	Q_3	12	+	—	—	
2620	Q_3	9	+	—	+	
2621	$+\text{O}+\text{Q}_3$	7	+	—	—	
2622	$+\text{O}+\text{Q}_3$	6	+	—	—	
2623	Q_3	15	+	—	—	
2624	Q_3	14	+	+	+	
2865	$+\text{O}+\text{Q}_3$	14	+	+	—	
2866	Q_3	14	+	—	—	
2867	Q_3	9	+	—	—	
2868	Q_3	14	+	—	—	
2869	$+\text{O}+\text{Q}_3$	16	+	—	+	
3245	Q_3	6	+	+	—	
3246	Q_3	$5\frac{1}{2}$	+	—	—	
3247	Q_3	6	+	—	—	
3248	Q_3	$5\frac{1}{2}$	+	—	—	
3249	$+\text{O}+\text{Q}_3$	9	+	—	—	
3250	$+\text{O}+\text{Q}_3$	7	+	—	—	
3524	Q_3	8	+	—	—	
3525	$+\text{O}+\text{Q}_3$	10	+	—	—	
3526	$+\text{O}+\text{Q}_3$	9	+	—	—	
3527	Q_3	8	+	—	—	
3528	$+\text{O}+\text{Q}_3$	8	+	—	—	
3529	$+\text{O}+\text{Q}_3$	9	+	—	+	
7137	Q_3	7	+	—	—	chloroform
7138	Q_3	7	—	—	—	chloroform
7139	Q_3	7	—	—	—	
7140	$+\text{O}+\text{Q}_3$	7	—	—	—	chloroform
7141	$+\text{O}+\text{Q}_3$	7	+	—	—	chloroform
7142	$+\text{O}+\text{Q}_3$	7	+	—	—	

TABEL III

VOEDSEL N S

Basis I

3 % citras natricus

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijn- selen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonder- heden
3416	♂	7	+	—	—	
3417	+0	7	+	—	—	
3418	+0	9	+	—	—	
3419	+0	9	+	—	—	
3420	♂	6	+	—	—	
3421	+0	9	+	—	—	
3422	+0	6	+	—	—	
3423	♂	6	+	—	—	
3424	♂	7	+	—	—	
3425	+0	6	+	—	—	
3426	♂	5	?	—	—	
3427	♂	8	+	—	—	
3730	♂	7	+	—	—	
3731	♂	6	+	—	—	
3732	♂	7	+	—	—	
3733	♂	6	+	—	—	
3734	♂	6	+	—	—	
3735	♂	5	+	—	—	
3736	+0	II	+	—	—	
3737	+0	8	+	—	—	
3738	+0	7	+	—	—	
3739	+0	7	+	—	—	
3740	♂	8	+	—	—	
3741	+0	II	+	—	—	

TABEL IV

VOEDSEL N T

Basis I

2 % NH_4Cl

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijsen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonderheden
3428	♀	8	+	+	+	
3429	♀	7	+	+	—	
3430	♂	6	+	—	—	
3432	♀	7	+	—	—	
3434	♀	7	+	—	—	
3435	♀	8	+	+	—	
3436	♂	7	+	—	—	
3437	♀	8	+	—	—	
3438	♀	8	+	—	—	
3439	♂	7	+	—	—	
3718	♂	6	+	—	—	
3719	♀	3	—	—	—	
3720	♀	7½	+	—	—	
3721	♂	7	+	—	—	
3722	♀	8	+	—	—	
3723	♀	8	+	—	—	
3724	♀	7½	+	—	—	
3725	♂	7	+	—	+	
3727	♂	5	+	—	—	
3728	♂	6½	+	—	+	

TABEL V

VOEDSEL N D

85 % droog diersoep

10 % gist

4 % zoutmengsel

1 % olie + vigantol

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijsen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonderheden
3251	O ₃ + O + O + O ₃	14	+	—	—	
3252		14	+	—	—	
3253		7	+	—	—	
3254		10	+	—	—	
3255		8	+	—	—	
3256		7½	+	—	—	

TABEL VI

VOEDSEL N D¹

Samenstelling zie ND + vitamine A

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijsen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonderheden
3582	O ₃ + O + O + O ₃ + O + O ₃	18	—	—	—	
3583		30	—	—	—	
3584		30	—	—	—	
3585		30	—	—	—	
3586		30	—	—	—	
3587		30	—	—	—	
3588		30	—	—	—	
3589		30	—	—	—	
3590		30	—	—	—	
3591		30	—	—	—	
3592		30	—	—	—	
3593		30	—	—	—	
4089		11	—	—	—	
4092		8	—	—	—	
38						

TABEL VII

VOEDSEL N E

Basis II

3 % Ca CO₃

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschin- selen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonder- heden
3141	♂	7	—	+	+	
3142	♂	107	—	+	—	
3143	♂	6	—	—	—	ascites
3144	♀	87	—	+	—	
3145	♂	32	—	+	+	ascites
3146	♂	32	—	+	—	ascites
3446	♀	6	—	—	+	
3447	♂	46	—	+	+	ascites
3448	♂	23	—	+	+	
3449	♂	16	—	+	+	ascites
3450	♂	6	—	+	+	ascites
3451	♂	73	—	+	+	
3860	♀	48	—	+	+	
3861	♀	129!	—	—	—	longabsces
3862	♀	60	—	+	+	
3863	♀	60	—	+	+	
3864	♂	77	—	+	+	
5818	♀	38	—	—	+	longabsces
5820	♂	60	—	—	—	longabsces
5821	♂	67	—	—	—	
5822	♂	23	—	—	—	
6513	♂	7	—	+	+	
6514	♂	10	—	—	+	

TABEL VIII

VOEDSEL N E

Basis II

3 % Ca CO_3

Nummer van de muis	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijn- selen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonder- heden
2	♂	54	—	—	—	aether
3	♀	65	—	—	—	aether
6	♀	75	—	—	—	
9	♂	13	—	—	—	
10	♂	82	—	—	—	
11	♀	50	—	—	—	
12	♀	17	—	—	—	
13	♂	72	—	—	—	
16	♂	12	—	—	—	
18	♀	86	—	—	—	chloroform
22	♀	81	—	—	—	
24	♂	26	—	—	—	
25	♀	4	—	—	—	
27	♂	38	—	—	—	
28	♂	56	—	—	—	
29	♂	22	—	—	—	
30	♂	15	—	—	—	
31	♀	59	—	—	—	
32	♀	1	—	—	—	

TABEL IX

VOEDSEL zie tekst
cavia's

Nummer van de cavia	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijn- selen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonder- heden
3	+O	31	—	—	—	chloroform
4	+O	31	—	—	—	chloroform
5	+O	31	—	—	—	chloroform
6	+O	31	—	—	—	chloroform
7	+O	31	—	—	—	chloroform
8	+O	31	—	—	—	chloroform
9	+O	31	—	—	—	chloroform

TABEL X

OUDE RATTEN
VOEDSEL N E
Basis II
3 % Ca CO₃

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijn- selen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonder- heden
6108	+O	24	—	—	—	chloroform
6109	+O	24	—	—	—	chloroform
6110	+O	38	—	gruis	—	
6111	Q ₃	28	—	—	—	
6113	Q ₃	8	—	—	—	
6786	Q ₃	83	—	—	—	
6787	Q ₃	54	—	—	—	longabsces
6788	Q ₃	51	—	—	—	
6789	+O	51	—	—	—	longabsces
6790	+O	30	—	—	—	longabsces
6791	+O	68	—	—	+	
7339	Q ₃	12	—	—	—	longabsces
7340	Q ₃	14	—	—	—	longabsces
7341	Q ₃	39	—	—	—	
7342	+O	36	—	—	—	

OUDE RATTEN (vervolg)
VOEDSEL N E
Basis II
3 % Ca CO_3

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijsen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blassteen	Bijzonderheden
7343	+	31	—	—	—	
7344	+	25	—	—	—	
8954	+	9	—	—	—	lichtgas
8955	+	9	—	—	—	
8956	+	52	—	+	+	
8957	+	9	—	—	—	lichtgas
8958	+	9	—	—	—	lichtgas
8959	+	59	—	—	—	chloroform
8960	Q ₁	3	—	—	—	
8961	Q ₂	26	—	—	—	
8962	Q ₃	59	—	—	—	chloroform
8963	Q ₃	9	—	—	—	lichtgas
8964	Q ₃	9	—	—	—	lichtgas
8965	Q ₁	50	—	—	—	
9360	+	51	—	—	—	chloroform
9361	+	51	—	—	—	chloroform
9362	+	51	—	—	—	chloroform
9363	+	44	—	—	—	chloroform
9364	+	49	—	—	+	
9365	+	44	—	+	—	
6112	Q ₁	I 15	—	—	—	chloroform
9483	+	48	—	—	—	
9484	+	41	—	+	—	
9485	Q ₂	49	—	+	+	chloroform
9486	+	49	—	—	—	chloroform
9487	+	12	—	—	—	
9488	Q ₁	28	—	—	—	
9489	Q ₂	44	—	+	+	
9490	Q ₂	10	—	—	—	
9491	Q ₂	24	—	—	—	
9492	Q ₂	40	—	—	+	

TABEL XI

VOEDSEL N E
Basis II
3 % Ca CO₃

Aantal proefdieren	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijn- selen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonder- heden
6	Q ₃	2½	—	—	—	aether
6	+Q	2½	—	—	—	aether
12	Q ₃	3	—	—	5	aether
9	+Q	3	—	1	—	aether
6	Q ₃	4	—	2	2	} extra hoeveelheid carotine!
6	+Q	4	—	4	1	
1	Q ₃	5	—	1	1	dood gev.
6	Q ₃	5	—	4	4	} aether
6	+Q	5	—	—	—	
8	Q ₃	6	—	2	6	} aether
6	+Q	6	—	—	—	
2	Q ₃	7	—	2	2	dood gev.
11	Q ₃	7	—	6	8	} extra hoeveelheid carotine
11	+Q	7	—	—	—	
8	Q ₃	8	—	3	4	} aether
8	+Q	8	—	1	1	
3	Q ₃	9	—	2	3	dood gev.
7	Q ₃	9	—	4	5	} aether
8	+Q	9	—	—	1	
5	+Q	10	—	—	1	} aether
5	Q ₃	10	—	1	1	
1	Q ₃	11	—	—	1	} aether
2	+Q	11	—	—	—	
4	Q ₃	13	—	3	4	} aether
2	+Q	13	—	—	1	
3	Q ₃	14	—	3	3	} aether
6	+Q	14	—	1	2	

TABEL XII

VOEDSEL N G
Basis II
3 % KH_2PO_4

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijsen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonderheden
3147	+ O Q_3 + O + O + O + O + O	104	—	—	—	sectie: pneumonie na nierextirpatie
3148		87	—	—	—	
3150		87	—	—	—	
3151		42	—	—	—	
3152		96	—	—	—	
3530		73	—	—	—	
3531		97	—	—	—	
3532		78	—	—	—	
3533		94	—	—	—	
3534		64	—	—	—	
3535	+ O Q_3	97	—	—	—	

TABEL XIII

VOEDSEL P A
Basis II
6 % Ca CO_3

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijsen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonderheden
3896	O Q_3 + O + O + O + O + O	52	—	+	+	veretterde longen chloroform aether
3897		81	—	++	—	
3898		62	—	+	+	
3899		10	—	+	+	
3900		77	—	—	—	
3901		81	—	+	+	
3902		94	—	+	—	
3904		75	—	+	—	
3905		58	—	+	+	
3906		66	—	+	+	

TABEL XIV

VOEDSEL S C

Basis II

2 % Ca CO₃

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijsen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonderheden
6327	♂	14	—	gruis	+	
6328	♀	89	—	+	+	
6329	♂	16	—	+	+	chloroform
6330	♂	108	—	—	—	chloroform
6332	♂	8	—	gruis	+	
6333	♂	8	—	gruis	+	
6334	♀	59	—	—	—	
6335	♀	3	—	—	—	
6336	♀	32	—	—	—	
6339	♀	32	—	—	—	
8640	♀	40	—	—	—	
8641	♀	62	—	—	—	chloroform
8642	♀	62	—	—	—	chloroform
8643	♀	62	—	—	—	chloroform
8644	♀	62	—	—	—	chloroform
8645	♂	62	—	+	+	chloroform
8646	♂	62	—	+	—	chloroform
8647	♂	62	—	+	+	chloroform
8648	♂	52	—	—	—	
8649	♂	62	—	+	+	chloroform
8650	♂	38	—	gruis	+	

TABEL XV

VOEDSEL S D

Basis II

I % Ca CO_3

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijsen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonderheden
6427	♀	104	—	—	—	
6428	♀	8	—	—	—	
6429	♀	72	—	—	—	
6430	♀	76	—	—	—	
6431	♀	4	—	—	—	
6432	♀	104	—	—	—	
6433	♂	67	—	—	—	
6434	♂	95	—	—	—	
6435	♂	32	—	—	—	
6438	♂	73	—	—	—	
8627	♀	62	—	—	—	chloroform
8628	♀	62	—	—	—	chloroform
8629	♀	62	—	—	—	chloroform
8630	♀	62	—	—	—	
8631	♀	62	—	—	—	chloroform
8632	♀	62	—	—	—	chloroform
8633	♂	41	—	—	+	
8634	♂	62	—	—	—	chloroform
8635	♂	62	—	+	+	chloroform
8636	♂	62	—	—	—	chloroform
8637	♂	62	—	—	—	chloroform
8638	♂	62	—	—	—	chloroform

TABEL XVI

VOEDSEL P B
Basis II
zonder zoutmengsel

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijn- selen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonder- heden
3967	♀	7	?	—	—	
3968	♂	7	+	—	—	
3969	♂	7	+	—	—	
3970	♀	8	+	gruis	—	
3971	♂	12	+	+	+	
4093	♀	6	+	—	—	
4095	♂	7	+	—	—	
4096	♀	6	+	gruis	—	
4097	♂	7½	+	+	+	
4098	♀	6	+	—	+	
4237	♀	14	+	—	+	
4239	♀	4	?	—	—	
4240	♂	10	+	+	+	
4241	♂	13	+	+	+	
4242	♂	10½	+	+	+	
4404	♀	12	+	+	+	
4405	♀	8	+	—	—	
4406	♀	8	+	—	+	
4407	♂	10	+	—	—	
4408	♂	10	+	+	+	
4409	♂	7½	+	—	+	

TABEL XVII

VOEDSEL P B
Basis II
zonder zoutmengsel
met levertraan per os

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijsen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonderheden
5007	♀	6	—	—	+	
5008	♂	15	—	—	+	
5009	♂	32	—	—	—	
5010	♀	55	—	—	+	
5011	♀	30	—	—	—	
5012	♀	28	—	—	gruis	
5013	♀	55	—	—	+	

TABEL XVIII

VOEDSEL P D
Basis II
3 % Ca Cl₂

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijsen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonderheden
4100	♀	50	?	—	—	
4101	♀	62	—	+	—	
4102	♂	70	—	—	—	
4103	♀	60	?	—	+	
4104	♀	57	—	—	—	
4106	♂	50	—	—	—	longabsces
4107	♀	66	—	—	—	longabsces
4108	♀	66	—	—	+	longabsces

TABEL XIX

VOEDSEL P D

Basis II

3 % Ca Cl₂

met levertraan per os

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijn- selen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonder- heden
7327	♂	32	—	—	—	aether
7328	♂	32	—	—	—	aether
7329	♂	37	—	—	—	aether
7330	♂	37	—	—	—	aether
7331	♂	60	—	—	—	aether
7332	♀	32	—	—	—	pleuritis
7333	♀	61	—	—	—	aether
7334	♂	57	—	—	—	
7335	♀	60	—	—	—	
7336	♀	52	—	—	—	
7337	♀	49	—	—	—	gas
7338	♀	13	—	—	—	

TABEL XX

VOEDSEL R L

60 % rijst
 3 % caseïne
 4 % gist
 2 % zoutmengsel
 1 % olie + vigantol
 30 % kalzanpoeder

Aantal proefdieren	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijn- selen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonder- heden
5132	♀	12	+	+	—	
5133	♂	5	+	+	+	
5134	♂	6	+	+	+	
5135	♀	10	+	—	+	
5136	♀	4	+	—	—	
5137	♂	5½	+	+	+	
5138	♂	4	+	—	—	
5139	♂	7	+	—	+	
5303	♀	6	+	—	—	
5304	♂	8	+	+	+	
5305	♂	8	+	—	—	
5306	♂	8	+	+	+	
5307	♂	6½	+	—	+	
5308	♂	6	—	+	+	
50						

TABEL XXI

VOEDSEL R N

60 % rijst
 3 % caseïne
 4 % gist
 2 % zoutmengsel
 1 % levertraan
 30 % kalzanpoeder

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijnen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonderheden
5140	Q ₃ Q ₃ +O+O Q ₃ Q ₃ Q ₃ Q ₃ Q ₃ Q ₃	7	—	—	+	
5141		7	+	gruis	+	
5142		7	+	gruis	+	
5143		6	—	—	—	
5144		17	+	gruis	—	
5145		4	+	—	—	
5146		7	+	—	+	
5147		7	—	—	—	

TABEL XXII

VOEDSEL R N

met levertraan per os

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijnen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonderheden
5309	+O+O Q ₃ Q ₃ Q ₃ Q ₃ Q ₃ Q ₃ Q ₃ Q ₃ Q ₃ Q ₃	14	—	—	—	ascites
5310		14	—	—	—	
5311		14	—	—	—	lichtgas
5313		14	—	—	—	lichtgas
5314		14	—	—	—	lichtgas
6257		4	—	—	—	
6258		17	—	—	—	
6259		20	—	—	—	chloroform
6260		20	—	—	—	chloroform

VOEDSEL R N
met levertraan per os

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijn- selen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonder- heden
6261	+O	20	—	—	—	chloroform
6263	+Q ₁	4	—	—	—	
6264	+O Q ₁	42	—	—	—	lichtgas
7216	+O Q ₁	10	—	—	—	lichtgas
7217	+O Q ₁	44	—	gruis	—	aether
7218	+O Q ₁	49	—	+	+	aether
7219	+O Q ₁	46	—	+	++	
7220	+O Q ₁	45	—	+	+	
7221	+O Q ₁	61	—	gruis	—	
7222	+O +O Q ₁	49	—	gruis	—	aether
7225	+O +O Q ₁	61	—	+	+	
7226	+O +O	5	—	gruis	—	
7227	+O +O	33	—	+	+	

VOEDSEL S H

Basis II

3 % CaCO_3

8 % Na lactaat

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijn- selen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonder- heden
7684	♂	78	—	—	—	chloroform
7686	♂	52	—	+	—	pneumonie
7688	♂	10	—	—	—	
7689	♂	78	—	gruis	—	chloroform
7690	♂	47	—	—	?	aether
7691	♂	51	—	+	+	aether
7692	♂	76	—	—	—	gas
7693	♂	78	—	gruis	+	chloroform
7694	♂	57	—	—	—	
7695	♂	71	—	+	+	

TABEL XXIV

VOEDSEL T R
Basis II
7 % Calciumlactaat

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijn- selen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonder- heden
8653	♀	60	—	—	—	chloroform
8654	♀	60	—	—	—	chloroform
8655	♀	61	—	—	—	chloroform
8656	♀	61	—	—	—	chloroform
8657	♀	43	—	—	—	
8658	♂	52	—	gruis	+	lichtgas
8659	♂	60	—	gruis	+	chloroform
8660	♂	60	—	gruis	+	chloroform
8661	♂	61	—	—	—	chloroform
8662	♂	61	—	gruis	gruis	chloroform
A 642	♂	9	—	—	+	
A 643	♂	41	—	—	+	chloroform
A 644	♂	4	—	gruis	+	
A 645	♀	41	—	—	+	chloroform
A 646	♀	41	—	+	—	chloroform
A 647	♀	41	—	+	—	chloroform

TABEL XXV

VOEDSEL R Z

Basis II

3 % Mg CO₃

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijsen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonderheden
6120	O ₁ O ₂ O ₃ O ₄ O ₅ O ₆ O ₇ O ₈ O ₉ O ₁₀	21	—	—	—	chloroform
6121		21	—	—	—	chloroform
6122		28	—	—	—	chloroform
6123		28	—	—	—	chloroform
6124		29	—	—	—	aether
6125		29	—	—	—	aether
6126		2	—	—	—	
6127		29	—	—	—	aether
6128		6	—	—	—	
6129		29	—	—	—	aether
6130		29	—	—	—	aether
6131		29	—	—	—	aether

TABEL XXVI

VOEDSEL T A

zie tekst

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijsen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonderheden
8725	O ₁ O ₂ O ₃ O ₄ O ₅ O ₆ O ₇ O ₈ O ₉ O ₁₀	14	—	gruis?	—	lichtgas
8726		8	—	—	—	
8727		1½	—	—	—	
8728		8	—	—	—	
8729		10	—	?	?	
8730		4	—	—	—	
9351		4	—	—	—	
9352		2½	—	—	—	lichtgas
9353		4	—	—	—	lichtgas
9354		3	—	—	—	
9355	O ₁ O ₂ O ₃ O ₄ O ₅ O ₆ O ₇ O ₈ O ₉ O ₁₀	3	—	—	—	
9356		2	—	—	—	

TABEL XXVII

VOEDSEL: BENZOAATVOEDSEL

Basis II

3 % Ca CO_3 $\frac{1}{10}$ % benzoas natricus

Nummer van de rat	Geslacht	Duur van de proef in weken	Verschijn- selen van tekort aan vitamine A	Niersteen	Blaassteen	Bijzonder- heden
8250	♀	16	—	—	—	aether
8251	♀	39	—	—	—	aether
8252	♀	70	—	+	+	chloroform longabscessen
8253	♂	51	—	—	—	
8254	♂	9	—	+	+	
8255	♂	70	—	+	—	chloroform
8306	♀	66	—	—	—	chloroform
8307	♀	57	—	—	—	
8308	♀	48	—	—	—	
8309	♂	42	—	—	—	
8310	♂	66	—	—	—	chloroform
8311	♂	7	—	—	—	

HOOFDSTUK IV

CALCIUMBEPALINGEN IN HET BLOEDSERUM VAN RATTEN, DIE OVERMAAT Ca CO_3 IN HET VOEDSEL KRIJGEN

Wij maakten voor de bepaling van Calcium in het bloedserum gebruik van de door F. RAPPAPORT en D. RAPPAPORT beschreven methode.

Het principe van deze reactie is, dat het calcium door ammoniumoxalaat wordt neergeslagen en het neerslag wordt dan, nadat het niet verbruikte ammoniumoxalaat door herhaald uitwasschen verwijderd is, in zwavelzuur opgelost. Het vrijgekomen oxaalzuur wordt door toevoeging van een bepaalde hoeveelheid van een gestelde $\frac{1}{1000}$ n. Cerisulfaatoplossing geoxydeerd. De overmaat Cerisulfaat wordt door titratie met een $\frac{1}{1000}$ n. thiosulfaatoplossing bepaald. De bij deze methode een rol spelende reacties zijn:



De methodiek is als volgt:

Een rat, die met aether onder narcose is gebracht, wordt op een operatieplankje vastgebonden. Daarna wordt door middel van een hartpunctie ongeveer 2 c.c. bloed opgezogen, dat direct wordt gecentrifugeerd.

0,2 c.c. serum wordt met een nauwkeurig gecalibreerde capillairpipet afgemeten en in een centrifugeerbuisje, waarin 0,5 c.c. van een ammoniumoxalaatoplossing is, uitgeblazen.

Om het calcium geheel te doen neerslaan, laat men dit buisje gedurende 24 uur bij kamertemperatuur staan. Daarna worden de wanden van het buisje met ongeveer 1 c.c. gedestilleerd water gewasschen, om aldus de er aan zittende ammoniumoxalaatkristallen op te lossen en daarna wordt gedurende 15 minuten snel gecentrifugeerd.

De bovenstaande vloeistof wordt voorzichtig met een, aan

het eind haakvormig gekromde capillair, door middel van een waterstraalluchtpomp afgezogen. Na toevoeging van 3 c.c. van een ammoniakoplossing wordt opnieuw gecentrifugeerd en de bovenstaande vloeistof weer afgezogen. Dit geschiedt daarna nog twee maal. Het neerslag wordt nu in 0,5 c.c. zwavelzuur 4n, terwijl het met een glasstaaf wordt geroerd, opgelost. Om alles goed te doen oplossen, worden de buisjes in een kokend waterbad geplaatst.

Nadat de vloeistof is afgekoeld tot kamertemperatuur, wordt er 2 c.c. cerisulfaat bijgedaan en daarna laat men het minstens drie minuten staan. Dan wordt, na toevoeging van eenige druppels kaliumjodide-oplossing en stijfsel met $\frac{1}{1000}$ n. thiosulfaat-oplossing getitreerd, totdat de vloeistof kleurloos is.

Berekening.

Het verschil tusschen het aantal c.c. thiosulfaat, dat verbruikt wordt bij de blancoproef (met 2 c.c. cerisulfaatoplossing) en bij de titratie van het serum, vermenigvuldigd met tien, geeft het calciumgehalte van het serum aan in mgr. %.

Bij ieder der ratten deden wij telkens twee bepalingen. Wij hebben de bepalingen gedaan bij 20 ratten, die alle gedurende meerdere maanden reeds het voedsel NE hadden gekregen. Dit voedsel bevat 88 % rijst, 3 % caseïne, 3 % gist, 2 % zoutmengsel, 1 % levertraan en bovendien 3 % Ca CO_3 .

Ter vergelijking deden wij de calciumbepalingen bij ratten, die ongeveer van hetzelfde gewicht waren en die gevoed werden met het op dit laboratorium gebruikte standaardvoedsel. Dit voedsel bevat één deel volle melkpoeder en twee deelen gemalen tarwe, waarbij aan 3 Kilogram van dat mengsel $\frac{1}{2}$ gram van het reeds vroeger genoemde „extra zoutmengsel” wordt toegevoegd (voedsel R).

De uitkomsten van deze bepalingen zijn in de volgende tabellen neergelegd. (Zie tabel XXVIII aan het slot van dit hoofdstuk.)

Het gemiddelde van deze 40 waarden geeft dus een waarde van 10,09 mgr. Ca in 100 c.c. serum van het bloed van een normaal gevoede rat. (Zie tabel XXIX.)

Het gemiddelde van deze 39 waarden geeft dus een waarde van 12,78 mgr. Ca in 100 c.c. serum van het bloed van een rat, die 3 % Ca CO_3 extra in het voedsel krijgt.

Conclusie.

Uit deze bepalingen blijkt dat het gemiddelde Calciumgehalte in het bloedserum van dieren, die een extra hoeveelheid Ca CO_3 in het voedsel krijgen, hooger is dan dat van dieren die een normaal dieet krijgen.

TABEL XXVIII

VOEDSEL R (normaal voedsel)

No. van de rat	Geslacht	mgr. Ca in 100 c.c. serum	
1	♂	11,3	10,9
2	♂	9,4	9,7
3	♂	9,3	9,2
4	♂	10,2	10,4
5	♂	10,7	11,2
6	♂	9,2	10,—
7	♂	10,4	10,8
8	♂	10,1	10,5
9	♂	10,7	10,6
10	♂	10,6	10,2
11	♀	10,1	10,4
12	♀	10,8	10,4
13	♀	9,8	9,8
14	♀	9,1	9,—
15	♀	9,9	10,—
16	♀	9,—	9,1
17	♀	10,—	10,1
18	♀	10,7	10,9
19	♀	9,1	9,7
20	♀	10,1	10,2

TABEL XXIX

VOEDSEL NE (voedsel met overmaat Ca CO_3)

de rat Geslacht	No. van	mgr. Ca in 100 c.c. serum	
1238	♂	13,3	12,8
1242	♂	11,5	11,7
1244	♂	11,9	11,6
1247	♂	11,9	11,9
1249	♂	13,3	13,5
1281	♂	11,8	11,7
1283	♂	12,1	12,4
1508	♂	11,6	11,5
1239	♀	12,3	11,8
1240	♀	13,3	13,4
1243	♀	11,3	11,2
1248	♀	12,3	12,4
1284	♀	14,1	14,3
1286	♀	13,8	13,9
1287	♀	16,1	15,6
1241	♀	11,4	11,5
1280	♀	12,4	
A	♀	15,1	15,2
B	♀	13,6	13,5
C	♀	12,4	13,2

SAMENVATTING

Uit de onderzoekingen der laatste jaren van OSBORNE en MENDEL (1917), FUJIMAKI (1926), DE LANGEN (1929), VAN LEERSUM (1927-1930), MCCARRISON (1928-1931), RANGANATHAN (1931), HIGGINS (1935) en anderen was het gebleken, dat er een bepaald verband gelegd kan worden tusschen de voeding en het ontstaan van nier- en blaasstenen. Vrijwel alle onderzoekers zijn het er over eens, dat een langdurig tekort aan vitamine A steenen kan doen ontstaan. Ook worden fouten in de minerale stofwisseling, zooals te weinig anorganisch phosphorus of te veel calcium in het voedsel, als steenvorming bevorderende oorzaken genoemd. Behoudens een enkele uitzondering beschouwen al deze onderzoekers echter het ontbreken van vitamine A in het voedsel als een primaire eisch om steenen te doen ontstaan.

Wij gingen uit van de door MC CARRISON gedane onderstelling, dat er een verband zou kunnen bestaan tusschen de calcium en phosphorus verhoudingen van het voedsel en de steenvorming, welke factoren te zamen met een tekort aan vitamine A het ontstaan van steenen zouden bevorderen.

Onze eerste proeven namen wij dan ook met twee voedsels, die behalve een tekort aan vitamine A een extra hoeveelheid respectievelijk van Ca CO_3 en van KH_2PO_4 bevatten. Het bleek toen, dat er *meer steenen* werden gevonden bij die dieren, die het *voedsel met overmaat Ca CO_3* kregen.

Om nu uit te sluiten, dat het slechts het basisch reageeren van dit voedsel was, dat hier de voornaamste rol speelde, vervingen wij de Ca CO_3 door een aequivalente hoeveelheid Natriumcitraat. Bij de dieren die dit voedsel kregen, zagen wij echter nooit steenen ontstaan.

Een poging om door de combinatie van de twee factoren, overmaat van eiwit en tekort aan vitamine A, uraatstenen te doen ontstaan bij ratten, mislukte ons. Voor zoover ons bekend, is het nog nooit gelukt bij ratten uraatstenen experimenteren te veroorzaken.

Vervolgens maakten wij een voedsel, waarbij wel een overmaat van 3 % Ca CO_3 werd gegeven, maar waarin voldoende vitamine A zat in de vorm van levertraan. Het merkwaardige

feit deed zich nu voor, dat deze dieren vrijwel alle op den duur blaas- en niersteen en kregen. *Op deze wijze is het ons dus gelukt, ratten in vrijwel honderd procent der gevallen niersteen en blaassteen en te doen krijgen, zonder dat er een tekort aan vitamine A bestaat.*

Als eerste merkwaardigheid bleek ons nu, dat terwijl het zeer gemakkelijk is bij jonge dieren deze steenen te verwekken bij oude dieren, die gedurende vele maanden ditzelfde voedsel krijgen, steenen slechts zeer sporadisch voorkomen. Bovendien bleek het ons, dat deze proeven bij jonge witte muizen geen goede resultaten gaven, terwijl soortgelijke proeven bij cavia's gedaan, ook geen resultaat opleverden.

Bij een uitvoerig onderzoek, dat wij instelden naar den tijd, die er verliep, tusschen het tijdstip waarop de dieren voor het eerst het voedsel kregen en het tijdstip, waarop steenen ontstonden, bleek het, dat de steenen veel eerder optraden bij mannetjes (reeds na 4 tot 5 weken) dan bij wijfjes en dat waarschijnlijk meestal het eerst blaassteen en optreden.

Als contraproef van ons voedsel met 3 % Ca CO_3 , dat basisch reageert, deden wij een proef met een voedsel, dat 3 % KH_2PO_4 extra bevatte en dat dus zuur reageert. Bij dit dieet zagen wij nooit steenen ontstaan.

Vervolgens gingen wij na of 3 % Ca CO_3 aan ons voedsel toegevoegd, een optimale hoeveelheid was om steenen te doen ontstaan. Het bleek ons toen, dat indien wij 6 % Ca CO_3 gaven in vrijwel alle gevallen steenen ontstonden. Gaven wij nu 2 % Ca CO_3 dan trad nog vrij vaak, hoewel in mindere mate dan bij het vorige voedsel, steenvorming op. Vrijwel geheel verdween dit echter indien wij slechts 1 % Ca CO_3 in het voedsel verwerkten. Gaven wij nu alleen drie procent Ca CO_3 extra bij het voedsel en lieten wij de gewone zouten weg, ook dan traden steenen nog frequent op, waaruit wij dus konden concluderen, dat het niet de andere zouten, maar juist deze extra gegeven Ca CO_3 hoeveelheid was, die steenen verwekte. Indien wij, in plaats van 3 % Ca CO_3 nu 3 % Ca Cl_2 aan het voedsel toevoegden en aldus de urine zuur deden reageeren, terwijl wij toch ongeveer gelijke hoeveelheden Calcium gaven, traden er nimmer steenen op, indien wij er voor zorgden dat er voldoende vitamine A in het voedsel was.

Vervolgens hebben wij een reeks proeven ingezet met extra aan het dieet een bepaalde hoeveelheid Calcium-natriumlactaat poeder toegevoegd, waarbij wij echter ook steenen zagen op-

treten, al is het wel waarschijnlijk, dat deze hier later ontstaan, dan bij de aequivalente carbonaatvoedsels.

Gaven wij Natriumlactaat te zamen met 3 % Calciumcarbonaat, ook dan traden toch steenen op en ook indien wij uitsluitend 7 % calciumlactaat gaven, hetgeen ongeveer overeenkomt met 3 % calciumcarbonaat, ontstonden er steenen.

De door ELSIE WATCHORN beschreven proeven, waarbij, door een overmaat magnesiumcarbonaat in het voedsel te verwerken, steenen ontstonden, zijn ook door ons herhaald, echter voorloopig met vrijwel negatief resultaat.

Naar aanleiding van het ontstaan van calciumcarbonaatsteenen bij een patient, na het langdurig gebruiken van Na HCO_3 in groote dosis, hebben wij ook proeven genomen waarbij nu in plaats van 3 % Ca CO_3 , 3 % Na HCO_3 werd gegeven. Voorloopig is het resultaat van deze proeven ook nog negatief. Een grootere reeks proefdieren, die dit voedsel krijgt, moet echter nog te zijner tijd worden onderzocht. Verder zijn wij nog doende met aan een groep dieren ons voedsel met 3 % Ca CO_3 extra te geven, waaraan nog een bepaalde hoeveelheid benzoëzuur is toegevoegd, welke stof omgezet tot hippuurzuur sterk oploosend op Ca CO_3 in de urine zou werken (NEUBERG, VERZÁR).

Voorloopig zijn de resultaten van deze proef bevredigend, al kunnen wij ook hierover nog niets definitiefs zeggen.

Ook hebben wij nog een aantal calciumbepalingen gedaan in het bloedserum van dieren, die een extra hoeveelheid Ca CO_3 in het voedsel kregen. Hieruit bleek, dat het gemiddelde calciumgehalte in het bloedserum van deze dieren duidelijk verhoogd was, vergeleken met dat van dieren, die een normaal dieet krijgen.

Aan het eind hebben wij een kort overzicht gegeven van de verschillende richtingen, waarin wij ons onderzoek hopen voort te zetten en waarbij in het bijzonder ook op therapeutische experimenten zal worden gelet.

Tenslotte wil ik er nog den nadruk op leggen, dat voor elk der onderzochte voedsels een groot aantal proefdieren gebruikt werd (in totaal voor het geheele onderzoek bijna zes honderd), zoodat individuele factoren zooveel mogelijk werden uitgeschakeld.

SUMMARY

From recent researches by OSBORNE and MENDEL (1917), FUJIMAKI (1926), DE LANGEN (1929), VAN LEERSUM (1927-1930), MC CARRISON (1928-1931), RANGANATHAN (1931), HIGGINS (1935) and others it had become evident that there was a definite relation between nutrition and the arising of kidney and bladder-stones. Nearly all research workers agree that a continued shortage of vitamin A may cause stones. Errors in mineral metabolism, such as too little inorganic phosphorus or too much calcium in food, are also mentioned as factors promoting the formation of stones. Barring a single exception all these investigators, however, regard the lack of vitamin A in food as a primary factor for the causation of stones.

We started from the supposition made by MC CARRISON that there might be some connection between the calcium and the phosphorus content of the food on one side and the formation of stones on the other side, which factors together with a lack of vitamin A might promote the generation of stones.

Our first experiments were therefore made with two foods, which, besides having a shortage of vitamin A, contained extra quantities of Ca CO_3 and KH_2PO_4 respectively. It then appeared that *more stones* were found in those animals which got the *food with an abundance of Ca CO_3* . To preclude any possibility of its being the basic reaction of this food that played the leading part here we substituted an equivalent quantity of sodium citrate for the Ca CO_3 . No stones were ever seen to arise in the animals fed on this product.

An attempt to produce ureal stones in rats by the combination of the two factors, over-abundance of albumen and deficiency of vitamin A, failed.

As far as is known to us nobody has ever succeeded in producing ureal stones experimentally in rats.

We next prepared a food containing an excess of 3 % Ca CO_3 but with enough vitamin A in the form of cod liver oil. The remarkable fact emerged that nearly all these animals got bladder and kidney stones in the long run. *In this way we therefore succeeded in producing kidney stones and bladder stones in*

practically 100 % of the cases without there being an insufficiency of vitamin A.

The first remarkable fact to strike us was that whereas it is very easy to produce these stones in young animals, they are but sporadically found in old animals even after many months of this same diet. Moreover we saw that these experiments gave no good results with young white mice, while similar experiments made with cavyes yielded no results either.

In the course of extended investigations made by us with regard to the duration of the period between the time when the animals got the food first and the time when stones came into being, the fact emerged that the stones appeared much sooner, (already after 4 to 5 weeks) in the males than in the females, bladder stones probable being the first to make their appearance in the majority of cases.

To counterbalance our experiment with 3 % Ca CO_3 food, which has a basic reaction, we experimented with a food containing an extra 3 % of KH_2PO_4 i.e. food with an acid reaction.

This diet never induced the formation of stones. We next went into the question as to whether an addition of 3 % Ca CO_3 to our food was the best quantity to form stones. We found that if we gave 6 % Ca CO_3 stones were formed in practically all the cases. If 2 % Ca CO_3 was given, stones were still produced fairly often, though less frequently than with the preceding diet.

The production of stones was, however, practically stopped if only 1 % Ca CO_3 was mixed with the food. When we gave only 3 % Ca CO_3 extra in the food and left away the ordinary salts, stones still arose rather frequently, from which we concluded that it was not the other salts, but the extra quantity of Ca CO_3 which induced the formation of the stones. If we added 3 % Ca Cl_2 to the food instead of 3 % Ca CO_3 , thus causing the urine to react acidly, though giving about equal quantities of calcium, stones were never found to appear, if good care was taken that there was enough vitamin A in the food.

Thereupon we carried out a series of experiments with certain additions to the diet of calciumsodium lactate powder, when we also saw stones appear, though probably they do so later than with equivalent carbonate foods.

On our giving sodium lactate together with 3 % calcium carbonate stones did appear too, as also on our administering

7 % calcium lactate only, which corresponds to about 3 % calcium carbonate.

The experiments described by ELSIE WATCHORN, when stones were produced by mixing an excess of magnesium carbonate with the food, were repeated by us, for the time being however with practically negative results. In connection with the formation of calcium carbonate stones in a patient after the continued use of Na HCO_3 in large doses, we also experimented with 3 % Na HCO_3 instead of 3 % Ca CO_3 . For the present the result of these experiments too is still negative. A large number of test animals getting this food must, however, still be examined. Further, we are also giving a groups of animals our food with an extra 3 % of Ca CO_3 to which a certain quantity of benzoic acid has been added, which substance, converted into hippuric acid, is said to be a strong dissolvent of Ca CO_3 in the urine (NEUBERG, VERZAR).

Provisionally the results of this experiment appear to be satisfactory, but here too we cannot state anything definite as yet.

In addition to this we have made a number of calcium determinations in the blood serum of animals which got an extra quantity of Ca CO_3 in their food. They showed conclusively that the average calcium percentage of the blood serum of these animals was distinctly higher than that of animals getting a normal diet.

At the end we have given a short survey of the different directions in which we hope to continue our research works, special attention to be paid to therapeutic experiments.

Finally I would observe that for each of the foods employed a great number of test animals were used (altogether for the whole investigation nearly six hundred), so that individual factors have been eliminated as much as possible.

GERAADPLEEGDE LITERATUUR

- Ph. Arons and M. P. J. van der Rijst. Archives Néerlandaises de Physiologie de l'homme et des animaux, (1932) 17, 578.
- A. Rich. Bliss. G. R. Livermore. E. O. Prather Jr. The Journal of Urology (1933) 30, 639.
- Virgil S. Counseller and James T. Priestley. The Journal of the Am. Med. Ass. (1935) 104, 1309.
- Gasparjan en Owtschinnikow. Zeitschr. f. Urolog. Chirurgie (1930) 365.
- Georg B. Gruber. Münch. Medizin. Wochenschrift (1935), 31, 1225.
- C. C. Higgins. The Journal of the Am. Med. Ass. (1935) 104, 1296.
- H. C. Hou. Chinese Journ. Physiol. (1935) 9, 299 (referaat uit Nutrition abstracts and Reviews).
- Linwood D. Keyser. The Journal of the Am. Med. Ass. (1935) 104, 1299.
- Otto Kleinschmidt. Die Harnsteine. Julius Springer. Berlin (1911).
- D. Klinkert. Geneeskundige bladen (1925) 24, 367.
- C. D. de Langen. Meded. v. d. dienst der Volksgezondheid in N.I. (1929) 18, 223.
- E. C. van Leersum. The Journal of biological chemistry (1928) 76, 137, (1928) 79, 461.
- E. C. van Leersum. Ned. Tijdschrift voor geneeskunde (1927) 71, 3370, (1930) 74, 5495.
- E. Lelesz en A. Przędziecka. Prace. Towarzystwie Przyjaciol. Nauk. w. Wilnie (1935) 9 (referaat uit Nutrition abstracts and Reviews).
- R. Mc Carrison. Ind. Journ. of Med. Research. (1926) 14,

895, (1927) 15, 197, (1927) 15, 485, (1928) 15, 801, (1930) 17, 1101, 1103, 1115, (1930) 18, 903, (1931) 19, 51, 55, The lancet (1931) 220, 1413, The British Med. Journal (1931) 1009.

Mc. Collum, Simmonds and Becker, aangehaald uit Mc. Collum and Simmonds. The Newer Knowledge of nutrition. (New York 1929).

Carl Neuberg. Biochem. Zeitschr. (1916) 76, 107.

Vincent J. O'Connor. The Journal of the Am. Med. Ass. (1935) 104, 1296.

Th. B. Osborne and L. B. Mendel. The Journal of the Am. Med. Ass. (1917) 69, 32.

S. Perlmann und W. Weber. Deutsche Mediz. Woch. (1928) 54, 1045. Münch. Mediz. Woch. (1928) 75, 2167 (1930) 77, 680.

Arthur Polak and J. A. Stokvis. Archives Néerlandaises de Physiologie de l'homme et des animaux. (1931) 16, 542.

S. Ranganathan. The Indian Journal of Med. Research. (1931-32) 19, 1, (1930-31) 18, 935.

Friedrich Rappaport. Mikrochemie des Blutes.

F. Rappaport und D. Rappaport. Mikrochemie (1934) 15, 107.

Sanetoshi Saiki. The Journal of Oriental Medicine (1933) 19, 58.

Hermann Schall. Nahrungsmitteltabelle (Leipzig, Kurt Kabitsch 1929).

I. Snapper. N. T. v. G. (1934) 78, 5587.

C. van Staveren. Aenteekeningen omtrent operatiën van den steen (Assen 1934).

F. Verzar. Ergebnisse der Physiologie (1931) 32, 391.

W. Vrolik. Verslag over het aantal en de behandelingswijze der steenlijders, die van 1830-1844 in Nederland zijn voorkomen.

Elsie Watchorn. Journal of Hygiene (1932) 32, 156.

Yoshitomo Fujimaki. The Japan Medical World (1926) 6, 29.

